



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

DISPOSICIÓN N° 5855

BUENOS AIRES 31 MAYO 2016

VISTO, el expediente n° 1-47-4610/13-0 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones la firma ABBOTT LABORATORIES ARGENTINA S.A solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos del Producto para diagnóstico de uso "in Vitro" denominado ABBOTT RealTime HCV Genotype II AMPLIFICATION REAGENT KIT / ENSAYO DE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA PREVIA RETROTRANSCRIPCIÓN (RT-PCR) PARA LA DETERMINACIÓN DE LOS GENOTIPOS DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C (VHC) EN SUERO Y PLASMA DE INDIVIDUOS INFECTADOS POR EL VHC.

Que a fs. 198 consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que el producto reúne 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 16.463, Resolución Ministerial N° 145/98 y Disposición A N M A T N° 2674/99.

Que se actúa 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° 5855

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACION NACIONAL DE
MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MÉDICA

D I S P O N E:

ARTICULO 1º.- Autorízase la venta a laboratorios de análisis clínicos del Producto para diagnóstico de uso "in Vitro" denominado ABBOTT RealTime HCV Genotype II AMPLIFICATION REAGENT KIT / ENSAYO DE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA PREVIA RETROTRANSCRIPCIÓN (RT-PCR) PARA LA DETERMINACIÓN DE LOS GENOTIPOS DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C (VHC) EN SUERO Y PLASMA DE INDIVIDUOS INFECTADOS POR EL VHC que será elaborado por ABBOTT MOLECULAR Inc. 1300 East Touhy Avenue. Des Plaines IL 60018. (USA) e importado por ABBOTT LABORATORIES ARGENTINA S.A a expenderse en ENVASES POR 24 DETERMINACIONES, CONTENIENDO: CONTROL INTERNO (2 viales x 1,2 ml), PACK DE AMPLIFICACION A (HCV Genotype II oligonucleotide Reagent A: 1 vial x 0,9 ml, Thermostable rTth Polimerase Enzyme: 1 vial x 0,141 ml y Activation reagent: 1 vial x 0,400 ml), PACK DE AMPLIFICACION B (HCV Genotype II oligonucleotide Reagent B: 1 vial x 0,9 ml, Thermostable rTth Polimerase Enzyme: 1 vial x 0,141 ml y Activation reagent: 1 vial x 0,400 ml) Y PACK DE AMPLIFICACION C (HCV Genotype II oligonucleotide Reagent C: 1 vial x 0,9 ml, Thermostable rTth Polimerase Enzyme: 1 vial x 0,141 ml y Activation reagent: 1 vial x 0,400 ml);cuya composición se detalla a fojas 33 y 34 con un



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

DISPOSICIÓN N° 5855

período de vida útil de 19 (DIECINUEVE) meses desde la fecha de elaboración ,
conservado a ≤ 10 °C.

ARTICULO 2º.- Acéptense los rótulos y manual de instrucciones obrantes a fojas
48 a 80, 83 a 114, 117 a 149 y 163 a 168, desglosándose las fojas 117 a 149 y
163 a 164 debiendo constar en los mismos que la fecha de vencimiento es la
declarada por el elaborador impreso en los rótulos de cada partida.

ARTICULO 3º.- Extiéndase el Certificado correspondiente.

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

ARTICULO 5º.- Regístrese; gírese a 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 nº: 1-47-4610/13-0.

DISPOSICIÓN N°:

5855

av.

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



PROYECTO DE ROTULO EXTERNO

Abbott RealTime HCV Genotype II Amplification Reagent Kit

IVD

Finalidad de uso: "Ver Instrucciones de uso"

24 tests

INTERNAL CONTROL (no de ref.: 8K24Y)

(2 frascos de 1,2 ml cada uno)

Menos del 0,01% de Armored RNA no infeccioso con secuencias de control interno en plasma humano negativo. El plasma humano negativo se analizó y no se encontró reactividad para el HbSAg, para el DNA del VHB, para el RNA del VHC, ni para el RNA del VIH, ni reactividad de anticuerpos anti-VIH-1/VIH-2, ni anti-VHC.

Conservantes: ProClin 300 al 0,1% y ProClin 950 al 0,15%.

AMPLIFICATION REAGENT PACK A

- 1 frasco (0,9 ml) de HCV Genotype II Oligonucleotide Reagent A
Menos del 0,1% de oligonucleótidos sintéticos (6 cebadores, 5 sondas) y menos del 0,1% de dNTPs y 10,4% de dimetilsulfóxido en solución tamponada con un colorante de referencia.
Conservantes: ProClin 300 al 0,1% y ProClin 950 al 0,15%.
- 1 frasco (0,141 ml) de Thermostable rTth Polymerase Enzyme (enzima polimerasa termoestable rTth) (2,9 a 3,5 unidades/ μ l) en solución tamponada.
- 1 frasco (0,400 ml) de Activation Reagent (reactivo de activación), solución de cloruro de manganeso 30 mM.
Conservantes: ProClin 300 al 0,1% y ProClin 950 al 0,15%.

AMPLIFICATION REAGENT PACK B

- 1 frasco (0,9 ml) de HCV Genotype II Oligonucleotide Reagent B
Menos del 0,1% de oligonucleótidos sintéticos (6 cebadores, 5 sondas) y menos del 0,1% de dNTPs y 10,4% de dimetilsulfóxido en solución tamponada con un colorante de referencia.
Conservantes: ProClin 300 al 0,1% y ProClin 950 al 0,15%.
- 1 frasco (0,141 ml) de Thermostable rTth Polymerase Enzyme (enzima polimerasa termoestable rTth) (2,9 a 3,5 unidades/ μ l) en solución tamponada.
- 1 frasco (0,400 ml) de Activation Reagent (reactivo de activación), solución de cloruro de manganeso 30 mM.
Conservantes: ProClin 300 al 0,1% y ProClin 950 al 0,15%.

AMPLIFICATION REAGENT PACK C

- 1 frasco (0,9 ml) de HCV Genotype II Oligonucleotide Reagent C
Menos del 0,1% de oligonucleótidos sintéticos (4 cebadores, 4 sondas), menos del 0,1% de dNTPs y 10,4% de dimetilsulfóxido en solución tamponada con un colorante de referencia.
Conservantes: ProClin 300 al 0,1% y ProClin 950 al 0,15%.
- 1 frasco (0,141 ml) de Thermostable rTth Polymerase Enzyme (enzima polimerasa termoestable rTth) (2,9 a 3,5 unidades/ μ l) en solución tamponada.

Dr. Jorge Marun
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

Dr. Miguel Liguori
Apoderado
Abbott Laboratories Argentina S.A.

ABBOTT



LABORATORIES ARGENTINA S.A.

5855

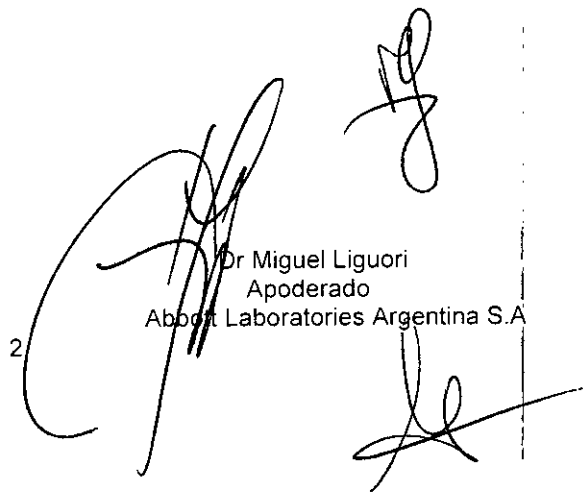


- 1 frasco (0,400 ml) de Activation Reagent (reactivo de activación), solución de cloruro de manganeso 30 mM.
Conservantes: ProClin 300 al 0,1% y ProClin 950 al 0,15%.

<input checked="" type="checkbox"/>	Conservar a: - 10 °C o menor	LOTE N°	VTO
-------------------------------------	------------------------------	---------	-----

Elaborado por	Abbott Molecular Inc. 1300 E. Touhy Avenue Des Plaines, IL 60018 USA
Importado y Distribuido por	ABBOTT LABORATORIES ARGENTINA S.A. Ing. Butty 240, Piso 13 C1001AFB, Ciudad Autónoma de Bs. As. Depósito: Pienovi 104, B1868DRD, Avellaneda, Pcia de Bs As
Dir.Tec.: Farm. Mónica E. Yoshida AUTORIZADO POR LA ANMAT Disp/Cert/Resol N°	


Dr. Jorge Marun
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.


Dr. Miguel Liguori
Apoderado
Abbott Laboratories Argentina S.A.



PROYECTO DE ROTULOS INTERNOS

Abbott RealTime HCV Genotype II Internal Control

IVD

1.2 ml

Conservar a: - 10 °C o menor

Lote N°

Vencimiento

Abbott RealTime HCV Genotype II Amplification

Reagent A

IVD

1 frasco (0.9 ml) de HCV Genotype II Oligonucleotide Reagent A

1 frasco (0.141 ml) de Thermostable rTth Polymerase Enzyme

1 frasco (0.400 ml) de Activation Reagent

Conservar a: - 10 °C o menor

Lote N°

Vencimiento

Abbott RealTime HCV Genotype II Amplification

Reagent B

IVD

1 frasco (0.9 ml) de HCV Genotype II Oligonucleotide Reagent B

1 frasco (0.141 ml) de Thermostable rTth Polymerase Enzyme

1 frasco (0.400 ml) de Activation Reagent

Conservar a: - 10 °C o menor

Lote N°

Vencimiento

Abbott RealTime HCV Genotype II Amplification

Reagent C

IVD

1 frasco (0.9 ml) de HCV Genotype II Oligonucleotide Reagent C

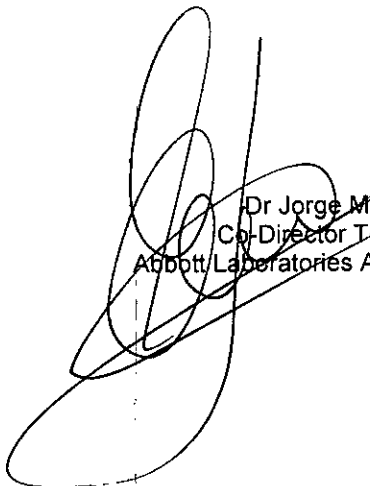
1 frasco (0.141 ml) de Thermostable rTth Polymerase Enzyme

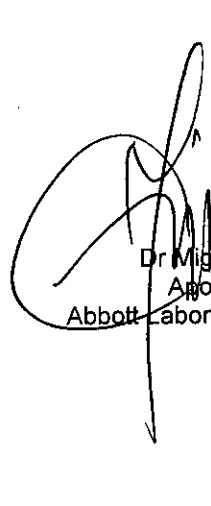
1 frasco (0.400 ml) de Activation Reagent

Conservar a: - 10 °C o menor

Lote N°

Vencimiento


 Dr. Jorge Marun
 Co-Director Técnico
 Abbott Laboratories Argentina S.A.


 Dr. Miguel Liguori
 Apoderado
 Abbott Laboratories Argentina S.A.



PROYECTO DEL MANUAL DE INSTRUCCIONES

NOMBRE

Abbott RealTime HCV Genotype II Amplification Reagent Kit

FINALIDAD DE USO

Abbott RealTime HCV Genotype II es un ensayo *in vitro* de reacción en cadena de la polimerasa previa retrotranscripción (RT-PCR) para la determinación de los genotipos del virus de la hepatitis C (VHC) en suero y plasma de individuos infectados por el VHC. El ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II no debe utilizarse para el cribado de donantes de sangre, plasma, suero o tejidos para la detección de VHC, ni como ensayo de confirmación de infección por VHC en muestras de donaciones de sangre, plasma, suero o tejidos.

RESUMEN Y EXPLICACION DEL ENSAYO

El VHC es un virus con envuelta que presenta como genoma una molécula de RNA monocatenario de polaridad positiva de aproximadamente 9 500 nucleótidos.¹ Se ha identificado como el principal agente causante de la hepatitis no A, no B postransfusional en el mundo. Según la clasificación por similitud genética, se conocen 6 genotipos principales (1-6) y numerosos subtipos.² El genotipo del VHC constituye un pronóstico en la respuesta de los pacientes infectados por el VHC al tratamiento combinado de interferón pegilado y ribavirina.³ Antes de iniciar el tratamiento combinado, se recomienda determinar el genotipo con el fin de ajustar el tratamiento a las necesidades del paciente.⁴

PRINCIPIOS BIOLÓGICOS DEL PROCEDIMIENTO

El ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II se compone de 2 equipos de reactivos:

- Abbott RealTime HCV Genotype II Amplification Reagent Kit (equipo de reactivos de amplificación)
- Abbott RealTime HCV Genotype II Control Kit (equipo de controles)

El ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II utiliza una RT-PCR para amplificar el genoma de RNA del VHC en muestras clínicas. Además, al comienzo de la preparación de las muestras, se introduce en cada muestra una secuencia de RNA no relacionado con la secuencia diana del VHC. Esta secuencia de RNA no relacionado se amplifica simultáneamente por RT-PCR y se utiliza como control interno (IC) para demostrar que el proceso se ha realizado correctamente para cada muestra. El ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II detecta los genotipos 1, 2, 3, 4, 5 y 6, y los subtipos 1a y 1b, con ayuda de las sondas de oligonucleótidos marcados por fluorescencia específicas del genotipo.

Preparación de las muestras

El sistema Abbott *m2000sp* prepara automáticamente las muestras mediante un protocolo basado en micropartículas magnéticas [Abbott *mSample* Preparation System (sistema de preparación de muestras) (4 x 24 preparaciones)] para procesar muestras

Dr Jorge Marun
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

Dr Miguel Liguori
Apoderado
Abbott Laboratories Argentina S.A.



de 0,5 ml (de plasma o suero recogidas en tubos con ACD-A, CPD, EDTA potásico o EDTA sódico). Como alternativa, las muestras también se pueden preparar manualmente utilizando el sistema Abbott *mSample Preparation System*.

Durante el protocolo de preparación de las muestras, los viriones del VHC se rompen con isotiocianato de guanidina, el RNA es capturado por las macropartículas magnéticas y, después, los inhibidores se eliminan por lavado y el RNA se eluye de las macropartículas. El control interno se introduce en cada una de las muestras al principio del proceso de preparación de muestras para demostrar que el proceso se ha realizado correctamente para cada muestra y cada control.

El sistema Abbott *mSample Preparation System* (4 x 24 preparaciones) utiliza la tecnología de partículas magnéticas para capturar los ácidos nucleicos y lavar las partículas de componentes de muestra no ligados.

Los ácidos nucleicos ligados se eluyen y se transfieren a la placa de 96 pocillos profundos. Los ácidos nucleicos están así listos para su amplificación.

Preparación de los reactivos y del conjunto de placas de reacción

El sistema Abbott *m2000sp* prepara tres mezclas (A, B y C) combinando el Abbott *RealTime HCV Genotype II Oligonucleotide Reagent* [reactivo de oligonucleótidos (A, B o C)] con la *thermostable rTth Polymerase Enzyme* (enzima polimerasa termoestable *rTth*) y el *Activation Reagent* (reactivo de activación). El sistema Abbott *m2000sp* dispensa las mezclas resultantes en la Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (placa de reacción de 96 pocillos) junto con las alícuotas de las muestras de ácidos nucleicos preparadas en el sistema Abbott *m2000sp*. Cada muestra procesada se añade a un pocillo con la mezcla A, a otro pocillo con la mezcla B y a otro con la mezcla C.

Alternativamente, los usuarios que hayan preparado las muestras manualmente deben combinar los componentes de los Abbott *RealTime HCV Genotype II amplification reagent* (reactivos de amplificación) para obtener las mezclas de amplificación y transferir las alícuotas de las mezclas y los fluidos de las muestras a la placa de reacción.

Una vez aplicado manualmente el sello óptico, la placa esta lista para ser transferida al sistema Abbott *m2000rt*.

Amplificación

El ensayo Abbott *RealTime HCV Genotype II* utiliza cuatro conjuntos de cebadores de la PCR. Un conjunto de cebadores se une a una secuencia de la región 5' sin traducir (UTR) del genoma del VHC.

Este conjunto de cebadores esta diseñado para amplificar todas las cepas del VHC. El segundo conjunto de cebadores está diseñado para amplificar la región NS5b del genotipo 1a. El tercer conjunto de cebadores del VHC está diseñado para amplificar la región NS5b del genotipo 1b. Por su parte, el conjunto de cebadores del control interno está diseñado para amplificar una región del gen de la hidroxipiruvato reductasa de la calabaza, *Cucurbita pepo*, y se suministra en una partícula de Armored RNA diluida en plasma humano negativo.

Durante la reacción de amplificación, el RNA diana se convierte en DNAC por la actividad retrotranscriptasa de la enzima DNA polimerasa termoestable *rTth*. En primer lugar, los cebadores inversos del VHC y del control interno hibridan (*anneal*) con

Dr Jorge Marun
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

Dr Miguel Liguori
Acreditado
Abbott Laboratories Argentina S.A.



sus dianas correspondientes y se produce la elongación durante el periodo prolongado de incubación.

Después del paso de desnaturalización, en el que la temperatura de reacción se eleva por encima del punto de fusión del producto DNAc:RNA de cadena doble, un segundo cebador híbrida (*anneal*) con la cadena DNAc y mediante la actividad DNA polimerasa de la enzima rTth se produce la elongación hasta crear un producto de DNA de cadena doble.

Durante cada ciclo térmico, los productos amplificados se separan en cadenas sencillas a temperaturas elevadas, permitiendo la hibridación (*annealing*) y la elongación de la cadena a medida que desciende la temperatura. La amplificación exponencial del producto se consigue mediante la repetición de ciclos de ascenso y descenso de la Temperatura, dando lugar a una amplificación de las secuencias diana de un mínimo de mil millones de veces.

Detección

El ensayo requiere tres reacciones independientes para detectar los genotipos 1, 2, 3, 4, 5 y 6, y los subtipos 1a y 1b:

- La reacción A esta diseñada para detectar todas las cepas del VHC, del subtipo 1a y del tipo 3.
- La reacción B está diseñada para detectar las cepas del tipo 2, del subtipo 1b y del tipo 1.
- La reacción C está diseñada para detectar las cepas del tipo 4, del tipo 5 y del tipo 6.

Reacción	Sonda	Colorante de referencia
A	Todas las cepas de VHC	FAM™
	Subtipo 1a	VIC™
	Genotipo 3	NED™
B	Genotipo 2	FAM
	Subtipo 1b	VIC
	Genotipo 1	NED
C	Genotipo 4	VIC
	Genotipo 5	FAM
	Genotipo 6	NED
A - C	Control interno (IC) Colorante de referencia	Quasar 670 ^a ROX ^b

a El colorante Quasar 670 contiene las mismas propiedades espectrales que Cy 5 (consulte el apartado Calibración óptica del Manual de operaciones del sistema Abbott m2000rt).

b ROX es un colorante de referencia pasivo en los reactivos de oligonucleótidos A, B y C.

La amplificación de ambas dianas, del RNA del VHC y del control interno, tiene lugar simultáneamente en una misma reacción. Las sondas específicas para el genotipo del VHC y para el control interno de cada reacción están marcadas con distintos

Dr. Jorge Marun
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

Dr. Miguel Liguori
Aprobado
Abbott Laboratories Argentina S.A.



fluoroforos, lo que permite la detección simultánea de los productos amplificados específicos del VHC y del control interno.

Durante la hibridación (*annealing*) en cada ciclo de amplificación, las sondas hibridan con la diana de amplificación correspondiente, en el caso de estar presente. El extremo 5' de cada sonda específica del VHC está marcado con un fluoroforo mientras que el extremo 3' está marcado con un extintor de fluorescencia y un grupo Minor Groove Binder (MGB™) [grupo para la unión con el surco menor]. En ausencia de secuencias diana del VHC, la fluorescencia de la sonda es extinguida. En presencia de secuencias diana del VHC, la sonda hibrida con su secuencia complementaria. Durante la elongación de la PCR, la actividad exonucleasa 5' a 3' (o Taqman) de la polimerasa rTth degrada la sonda hibridada en constituyentes de nucleótidos separando el extintor de fluorescencia y el fluoroforo y permitiendo así la emisión de la fluorescencia y su detección.⁶

El instrumento Abbott *m2000rt* detecta la fluorescencia resultante de los distintos fluoroforos en cada pocillo de reacción después de cada ciclo.

PREVENCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN POR ÁCIDO NUCLEICO

Se ha minimizado la posibilidad de contaminación por ácido nucleico ya que:

- Los procesos de retrotranscripción, amplificación por PCR e hibridación de los oligonucleótidos se llevan a cabo en una placa de reacción óptica de 96 pocillos sellada.
- La detección se lleva a cabo automáticamente sin necesidad de abrir la placa de reacción óptica de 96 pocillos.
- En todas las dispensaciones se utilizan puntas de pipetas antiaerosoles. Las puntas de pipetas se desechan después del uso.
- Para realizar el ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II se utilizan áreas distintas y específicas. Consulte el apartado **PRECAUCIONES ESPECIALES** en estas instrucciones de uso.

REACTIVOS

Abbott RealTime HCV Genotype II Amplification Reagent Kit (equipo de reactivos de amplificación) (no de ref. 8K24-90)

1. **INTERNAL CONTROL** Abbott RealTime HCV Genotype II Internal Control (control interno) (no de ref.: 8K24Y)
(2 frascos de 1,2 ml cada uno)

Menos del 0,01% de Armored RNA no infeccioso con secuencias de control interno en plasma humano negativo. El plasma humano negativo se analizó y no se encontró reactividad para el HBsAg, para el DNA del VHB, para el RNA del VHC, ni para el RNA del VIH, ni reactividad de anticuerpos anti-VIH-1/VIH-2, ni anti-VHC.
Conservantes: ProClin 300 al 0,1% y ProClin 950 al 0,15%.

2. Abbott RealTime HCV Genotype II Amplification Reagent Packs (envases de reactivos de amplificación) (no de ref.: 8K24)

- (1) **AMPLIFICATION REAGENT PACK A** Envase de reactivos A
 - 1 frasco (0,9 ml) de HCV Genotype II Oligonucleotide Reagent A (envase de reactivos de oligonucleótidos A). Menos del 0,1% de oligonucleótidos sintéticos

Dr. Jorge Marín
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

Dr. Miguel Liguori
Apoderado
Abbott Laboratories Argentina S.A.



(6 cebadores, 5 sondas) y menos del 0,1% de dNTPs y 10,4% de dimetilsulfóxido en solución tamponada con un colorante de referencia.

Conservantes: ProClin 300 al 0,1% y ProClin 950 al 0,15%.

- 1 frasco (0,141 ml) de Thermostable rTth Polymerase Enzyme (enzima polimerasa termoestable rTth) (2,9 a 3,5 unidades/ μ l) en solución tamponada.
 - 1 frasco (0,400 ml) de Activation Reagent (reactivo de activación), solución de cloruro de manganeso 30 mM.
- Conservantes: ProClin 300 al 0,1% y ProClin 950 al 0,15%.

(2) **AMPLIFICATION REAGENT PACK B** Envase de reactivos B.

- 1 frasco (0,9 ml) de HCV Genotype II Oligonucleotide Reagent B (envase de reactivos de oligonucleótidos B). Menos del 0,1% de oligonucleótidos sintéticos (6 cebadores, 5 sondas) y menos del 0,1% de dNTPs y 10,4% de dimetilsulfóxido en solución tamponada con un colorante de referencia.
 - 1 frasco (0,141 ml) de Thermostable rTth Polymerase Enzyme (enzima polimerasa termoestable rTth) (2,9 a 3,5 unidades/ μ l) en solución tamponada.
 - 1 frasco (0,400 ml) de Activation Reagent (reactivo de activación), solución de cloruro de manganeso 30 mM.
- Conservantes: ProClin 300 al 0,1% y ProClin 950 al 0,15%.

(3) **AMPLIFICATION REAGENT PACK C** Envase de reactivos C.

- 1 frasco (0,9 ml) de HCV Genotype II Oligonucleotide Reagent C (envase de reactivos de oligonucleótidos C). Menos del 0,1% de oligonucleótidos sintéticos (4 cebadores, 4 sondas), menos del 0,1% de dNTPs y 10,4% de dimetilsulfóxido en solución tamponada con un colorante de referencia.
 - 1 frasco (0,141 ml) de Thermostable rTth Polymerase Enzyme (enzima polimerasa termoestable rTth) (2,9 a 3,5 unidades/ μ l) en solución tamponada.
 - 1 frasco (0,400 ml) de Activation Reagent (reactivo de activación), solución de cloruro de manganeso 30 mM.
- Conservantes: ProClin 300 al 0,1% y ProClin 950 al 0,15%.

Nota: los reactivos de amplificación son de un solo uso. El reactivo sobrante permanecerá en el frasco del envase de reactivos después del uso. El reactivo sobrante que no se haya utilizado se debe desechar.

Abbott RealTime HCV Genotype II Control Kit (equipo de controles) (no de ref.: 8K24-80)

1. **CONTROL -** Abbott RealTime HCV Genotype II Negative Control (control negativo) (no de ref.: 8K24Z)
(4 viales de 1,3 ml cada uno). El plasma humano negativo se analizó y no se encontró reactividad para el HBsAg, para el DNA del VHB, para el RNA del VHC, ni para el RNA del VIH, ni reactividad de anticuerpos anti-VIH-1/VIH-2 ni anti-VHC.
Conservantes: ProClin 300 al 0,1% y ProClin 950 al 0,15%.
2. **CONTROL +** Abbott RealTime HCV Genotype II Positive Control (control positivo) (no de ref.: 8K24W)
4 viales (1,3 ml cada uno) de Armored RNA no infeccioso que representa la región 5' sin traducir (5' UTR) del genotipo 1a del VHC y secuencias de la 5' UTR del genotipo

Dr Jorge Marañ
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

Dr Miguel Liguori
Aprobado
Abbott Laboratories Argentina S.A.



4 del VHC en plasma humano negativo. El plasma humano negativo se analizó y no se encontró reactividad para el HBsAg, para el RNA del VIH, para el RNA del VHC, ni para el DNA del VHB, ni reactividad de anticuerpos anti-VIH-1/VIH-2 ni anti-VHC. Conservantes: ProClin 300 al 0,1% y ProClin 950 al 0,15%.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

IVD Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*

Para uso exclusivo en diagnóstico *in vitro*.

El ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II no debe utilizarse para el cribado de donantes de sangre, plasma, suero o tejidos para la detección de VHC, ni como ensayo de confirmación de infección por VHC en muestras de donaciones de sangre, plasma, suero o tejidos.

Precauciones de seguridad

Consulte en los manuales de operaciones de los sistemas Abbott *m2000sp* y Abbott *m2000rt*, el capítulo Riesgos o en el manual Protocolo de extracción manual de muestras para el ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II (no de ref.: B2N043), el capítulo Precauciones de manejo, para obtener más información sobre las precauciones de seguridad.



ATENCIÓN: este producto contiene componentes de origen humano o potencialmente infeccioso. Para una enumeración más detallada, consulte el apartado **REACTIVOS** en estas instrucciones de uso. Se ha analizado el material de origen humano y no se ha encontrado reactividad para el HBsAg, para el DNA del VHB, para el RNA del VHC, ni para el RNA del VIH, ni reactividad de anticuerpos anti-VIH-1/VIH-2 ni anti-VHC. Al no existir métodos de análisis que garanticen la inocuidad de materiales de origen humano o de microorganismos inactivados, todos los materiales de origen humano se deben considerar potencialmente infecciosos.

Maneje estos reactivos y las muestras de origen humano según las recomendaciones especificadas en la publicación "OSHA Standard on Bloodborne Pathogens".⁷ En el caso de materiales que contengan o pudieran contener agentes infecciosos, se deben seguir las prácticas de seguridad biológica "Biosafety Level 2"⁸ u otras normativas equivalentes.^{9,10} Estas precauciones incluyen, entre otras, las siguientes:

- Use guantes al manejar las muestras o los reactivos.
- No pipetee con la boca.
- No coma, beba, fume, aplique cosméticos ni manipule lentes de contacto en áreas donde se trabaja con estos materiales.
- Limpie y desinfecte las salpicaduras de las muestras con un desinfectante tuberculicida como el hipoclorito de sodio al 1,0% u otro desinfectante adecuado.^{11,12}
- Descontamine y deseche todo el material potencialmente contaminado de acuerdo a la normativa vigente.^{13,14}

El equipo de controles Abbott RealTime HCV Genotype II, el control interno, los reactivos oligonucleótidos A, B y C, y el reactivo de activación contienen una mezcla de 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona y 2-metil-4-isotiazolin-3-ona, que son componentes del ProClin. Los componentes están clasificados según las directivas de la Comunidad Europea (CE) como: Irritantes (Xi). A continuación se indican las frases relativas a los riesgos derivados de los peligros de la sustancia (R) y consejos de prudencia (S).

Dr. Jorge Marun
Sub-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

Dr. Miguel Liguori
Apoderado
Abbott Laboratories Argentina S.A.



- R43 Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel.
- R36/38 Irrita los ojos y la piel.
- S24 Evítese el contacto con la piel.
- S25 Evítese el contacto con los ojos.
- S35 Elimine los residuos del producto y sus recipientes con todas las precauciones posibles.
- S37 Úsense guantes adecuados.
- S39 Úsense protección para los ojos/la cara.
- S46 En caso de ingestión, acúdase inmediatamente al médico y muéstrele la etiqueta o el envase.

PRECAUCIONES ESPECIALES

Precauciones de manejo

El ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II solo está diseñado para su uso con muestras de suero y plasma humanos que se hayan manejado y almacenado en tubos con tapón tal y como se describe en el apartado **RECOGIDA, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS AL LABORATORIO**.

Durante la preparación de las muestras, es esencial el cumplimiento de las buenas prácticas de laboratorio para minimizar el riesgo de contaminación cruzada entre las muestras y la introducción involuntaria de ribonucleasas (RNAsas) en las muestras durante y después del procedimiento de extracción. Cuando se trabaja con RNA se deben utilizar siempre técnicas asépticas adecuadas.

Las tecnologías de amplificación tales como la PCR son sensibles a la introducción accidental de productos de reacciones de amplificación previas. Se pueden obtener resultados incorrectos si se contaminan accidentalmente, aunque solo sea con muy pocas moléculas de producto de amplificación, las muestras clínicas o los reactivos RealTime utilizados durante el paso de amplificación. Las medidas para reducir el riesgo de contaminación en el laboratorio incluyen separar físicamente las actividades que conlleva una PCR de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio.

Áreas de trabajo

Utilice tres áreas específicas en el laboratorio para realizar el ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II con el método de preparación manual de muestras y el sistema Abbott m2000rt:

- El área de preparación de los reactivos está dedicada a mezclar los componentes de los reactivos de amplificación Abbott RealTime HCV Genotype II para obtener las mezclas de amplificación A, B y C, y transferir alícuotas de las mezclas a la placa de reacción.
Las batas de laboratorio, las pipetas, las puntas de pipetas, y el vortex utilizados en el área de preparación de los reactivos deben permanecer en este área y no se deben trasladar al área de preparación de muestras ni al área de amplificación.
- El área de preparación de muestras está destinada a procesar las muestras (muestras y controles Abbott RealTime HCV Genotype II) y a añadir las muestras y los controles procesados a la placa de reacción óptica de 96 pocillos. Todos los reactivos utilizados en el área de preparación de muestras deben permanecer en este área específica todo el tiempo. Las batas de laboratorio, las pipetas,

Dr. Jorge Marín
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

Dr. Miguel Liguori
Apoderado
Abbott Laboratories Argentina S.A.



las puntas de pipetas, y el vortex utilizados en el área de preparación de muestras deben permanecer en este área y no se deben trasladar al área de preparación de reactivos ni al área de amplificación. No traslade producto amplificado al área de Preparación de muestras.

- El área de amplificación está dedicada a la amplificación y detección del producto amplificado. Las batas de laboratorio y el equipo utilizado en el área de amplificación deben permanecer en este área y no se deben trasladar al área de preparación de los reactivos ni al área de preparación de muestras.

Se recomienda utilizar solamente dos áreas específicas, el área de preparación de muestras y el área de amplificación cuando utilice el sistema Abbott *m2000sp* y *m2000rt*.

Los componentes del equipo deben utilizarse conjuntamente. No mezcle componentes de distintos lotes entre sí. Por ejemplo: no utilice el control negativo del equipo de control con el no de lote X con los controles positivos del equipo de control con el no de lote Y. Además, no mezcle ni combine los envases de reactivos de amplificación A, B y C de distintos lotes de equipos de amplificación.

No utilice los equipos ni los reactivos transcurrida la fecha de caducidad.

Las áreas de trabajo y las plataformas de instrumentos se deben considerar fuentes potenciales de contaminación. Cámbiese los guantes después de entrar en contacto con productos posiblemente contaminados (tales como muestras, fluidos y/o producto amplificado), antes de manejar los reactivos, el control negativo, el control positivo o las muestras no abiertos. Si desea obtener más información sobre los procedimientos de limpieza de los instrumentos, consulte los manuales de operaciones de los sistemas Abbott *m2000sp* y *m2000rt*.

Si se suspende el procesamiento en el instrumento Abbott *m2000sp*, deseche todos los productos y reactivos según lo descrito en el Manual de operaciones del sistema Abbott *m2000sp*. Si se suspende el protocolo de adición de la mezcla Abbott *m2000sp*, deseche la placa de reacción óptica de 96 pocillos en una bolsa de plástico sellable de acuerdo con las instrucciones del Manual de operaciones del sistema *m2000sp*, capítulo Riesgos, junto con los guantes utilizados para manejar la placa.

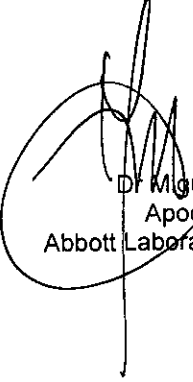
Si se interrumpe o se suspende el procesamiento en el sistema Abbott *m2000rt*, deseche la placa de reacción óptica de 96 pocillos en una bolsa de plástico sellable de acuerdo con el Manual de operaciones del sistema Abbott *m2000rt*, junto con los guantes que haya utilizado para manejar la placa.

Descontamine y deseche todas las muestras, los reactivos, y demás material posiblemente biopeligroso de acuerdo con la normativa vigente.13,14 Todos los materiales se deben manejar de forma que se minimice la posibilidad de contaminación en el área de trabajo.

Nota: la esterilización por autoclave de la placa de reacción sellada no degrada el producto amplificado y puede contribuir a que el producto amplificado se derrame, ya que se puede abrir la placa.

El laboratorio puede contaminarse con producto amplificado si los materiales de desecho no se manejan y almacenan con cuidado antes y después del procesamiento.


 Dr. Jorge Marun
 C. Director Técnico
 Abbott Laboratories Argentina S.A.


 Dr. Miguel Liguori
 Apoderado
 Abbott Laboratories Argentina S.A.



Contención del aerosol

Para reducir el riesgo de contaminación por ácido nucleico debido a los aerosoles formados durante el pipeteo manual, se deben utilizar para todos los pipeteos manuales puntas de pipetas con filtro antiaerosol.

Las puntas de pipetas deben utilizarse solo una vez. Limpie y desinfecte las salpicaduras de las muestras y los reactivos como se indica en los manuales de operaciones de los sistemas Abbott *m2000sp* y Abbott *m2000rt*.

Contaminación e inhibición

Se deben observar las precauciones siguientes para minimizar los riesgos de contaminación por ribonucleasas, contaminación cruzada entre muestras e inhibición:

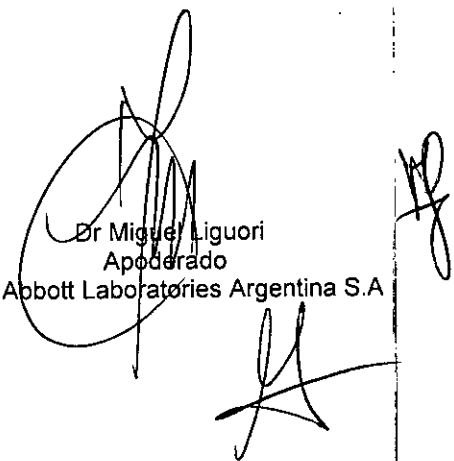
- Use indumentaria protectora adecuada en todo momento.
- Use guantes sin talco.
- Cámbiese los guantes si ha entrado en contacto con posibles contaminantes (muestras, fluidos y/o producto amplificado).
- Para reducir el riesgo de contaminación por ácido nucleico debido a aerosoles formados durante el pipeteo, se deben utilizar para todos los pipeteos puntas de pipetas con filtro antiaerosol. La punta debe ser lo suficientemente larga para evitar la contaminación del cilindro de la pipeta. Al pipetear, deberá tener cuidado de no introducir el filtro antiaerosol dentro del tubo de muestra o del recipiente. Se recomienda el uso de puntas de pipetas antiaerosoles extendidas.
- Utilice una punta de pipeta nueva con filtro antiaerosol para CADA dispensación manual de líquido.
- Los reactivos del sistema de preparación de muestras Abbott *mSample Preparation System* (4 x 24 preparaciones) son de un solo uso. Utilice recipientes de reactivo, tubos de reacción y reactivos recién abiertos para cada procesamiento del ensayo Abbott *RealTime HCV Genotype II*. Al final de cada procesamiento, deseche el reactivo restante de la mesa de trabajo tal y como se describe en el Manual de operaciones del sistema Abbott *m2000sp* y en la hoja de información del producto del sistema de preparación de muestras (Abbott *mSample Preparation System*) (4 X 24 preparaciones).

CONTAMINACION POR PRODUCTO AMPLIFICADO EXTERNO QUE CONTIENE dU

Aquellos laboratorios que usen o hayan utilizado ensayos de amplificación del VHC que incluyan el procesamiento del producto amplificado después de la PCR, pueden estar contaminados con producto amplificado que contenga dU y pueden obtenerse resultados inexactos con el ensayo Abbott *RealTime HCV Genotype II*.

Cuando los controles negativos sean persistentemente reactivos o donde haya podido producirse contaminación con producto amplificado del VHC que contenga dU, se recomienda que el laboratorio utilice un procedimiento de control de la contaminación. Este procedimiento (no de ref. 08K24-66) lo puede obtener a través del Centro de Asistencia Técnica de Abbott Molecular.


 Dr. Jorge Marun
 Co-Director Técnico
 Abbott Laboratories Argentina S.A.


 Dr. Miguel Liguori
 Apoderado
 Abbott Laboratories Argentina S.A.



INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Abbott RealTime HCV Genotype II Amplification Reagent Kit (equipo de reactivos de amplificación) (no de ref.: 8K24-90).

- Los envases de reactivos de amplificación Abbott RealTime HCV Genotype II y los viales de control interno deben almacenarse a una temperatura igual o inferior a -10°C cuando no se están utilizando. Se debe tener cuidado al separar los envases de los reactivos de amplificación Abbott RealTime HCV Genotype II que se están utilizando para que no entren en contacto con muestras y controles.

Abbott RealTime HCV Genotype II Control Kit (equipo de controles) (no de ref.: 8K24-80).

- Los controles negativo y positivo Abbott RealTime HCV Genotype II deben almacenarse a una temperatura igual o inferior a -10°C .

CONDICIONES PARA EL TRANSPORTE

- Abbott RealTime HCV Genotype II Amplification Reagent Kit (equipo de reactivos de amplificación): transportar con nieve carbónica.
- Abbott RealTime HCV Genotype II Control Kit (equipo de controles): transportar con nieve carbónica.

INDICACIONES DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Si un control positivo o negativo esta fuera del intervalo esperado, puede ser indicio de deterioro de los reactivos. Los resultados de estos ensayos no son válidos y las muestras se deben analizar nuevamente.

RECOGIDA, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS AL LABORATORIO

Recogida y almacenamiento de las muestras

Se deben utilizar muestras de suero y plasma humanos (recogidas en tubos con ACD-A, CPD, EDTA potásico o EDTA sódico) con el ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II. Siga las instrucciones del fabricante para el procesamiento de los tubos de recogida. Las muestras recién recogidas (sangre) pueden conservarse a una temperatura entre 2°C y 30°C hasta 6 horas antes de la centrifugación.

Después de la centrifugación, retire el suero o plasma de las células.

Las muestras de suero o plasma se pueden almacenar:

- hasta 24 horas a una temperatura entre 15°C y 30°C
- hasta 3 días a una temperatura entre 2°C y 8°C
- períodos más largos a una temperatura igual o inferior a -70°C ^{15,16}

Evite someter las muestras a múltiples ciclos de congelación/descongelación. Si están congeladas, descongele las muestras a una temperatura de entre 15°C y 30°C o de entre 2°C y 8°C . Una vez descongeladas, si no va a procesar las muestras

Dr. Jorge Marun
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

Dr. Miguel Liguori
Aboderado
Abbott Laboratories Argentina S.A.



inmediatamente, se pueden almacenar a una temperatura de entre 2°C y 8°C hasta 6 horas.

Antes del análisis, las muestras que presenten partículas en suspensión o turbidez se deben aclarar por centrifugación a 2 000g durante 5 minutos.

Transporte de las muestras

Transporte las muestras congeladas en nieve carbónica. Para el transporte nacional e internacional, las muestras se deben empaquetar y etiquetar de acuerdo con la normativa vigente sobre el transporte de muestras clínicas, para diagnóstico o biológicas.

PROCEDIMIENTO DEL INSTRUMENTO

Los ficheros de aplicación del ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II se deben instalar en los sistemas Abbott *m2000sp* y Abbott *m2000rt* con el Abbott RealTime HCV Genotype II *m2000* System ROW Combined Application CD-ROM (CD-ROM de aplicaciones combinadas del sistema *m2000*, internacional excepto para EE.UU.) antes de llevar a cabo el ensayo. Para obtener más información sobre la instalación de los ficheros de aplicación, consulte en los manuales de operaciones Abbott *m2000sp* y Abbott *m2000rt*, el capítulo Instrucciones de funcionamiento.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO ABBOTT REALTIME HCV GENOTYPE II

Materiales suministrados

- Abbott RealTime HCV Genotype II Amplification Reagent Kit (equipo de reactivos de amplificación) (no de ref.: 8K24-90)

Materiales necesarios pero no suministrados

- Abbott RealTime HCV Genotype II Control Kit (equipo de controles) (no de ref.: 8K24-80)

Consulte el capítulo Material y equipo necesario en el manual Protocolo de extracción manual de muestras para los ensayos Abbott RealTime HCV Genotype II (no de ref.: B2N043) para la preparación manual de muestras.

Área de preparación de muestras

- Manual de operaciones del sistema Abbott *m2000sp* (no de ref.: B9K203)
- Instrumento Abbott *m2000sp* (no de ref.: 9K14)
- Versión de software 3.0 o superior del sistema Abbott *m2000sp*
- Abbott *mSample* Preparation System (sistema de preparación de muestras) (4 x 24 preparaciones) (no de ref.: 4J70-24)
- Gradillas de muestras
- Pipetas calibradas para dispensar 20 µl - 1 000 µl
- Puntas de pipeta para pipetas de precisión con filtro antiaerosol para dispensar entre 20 µl y 1 000 µl
- Tubos de recogida de muestras de 11,6 mm a 16 mm
- Puntas de pipetas desechables de 200 µl a 1 000 µl

Dr Jorge Mardn
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

Dr Miguel Liguori
Apoderado
Abbott Laboratories Argentina S.A.



- Tubos de reacción de 5 ml
- Centrifuga con una velocidad de centrifugación de 2 000g y 5 000g
- Abbott Optical Adhesive Covers (cubiertas adhesivas ópticas de Abbott)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (aplicadores para la cubierta adhesiva óptica)
- Abbott Splash Free Support Base (base soporte para placas)
- Tubos de transporte (frascos de mezcla)
- Recipientes de reactivo de 200 ml
- Abbott 96 Deep-Well Plates (placas de 96 pocillos profundos)
- Abbott RealTime HCV Genotype II *m2000* ROW System Combined Application CD-ROM (CD-ROM de aplicaciones combinadas del sistema *m2000*, internacional excepto para EE.UU.) (no de ref.: 8L36)
- Mezclador vortex
- Agua sin ribonucleasas (Eppendorf Scientific, Inc. o equivalente)†
- Tubos de microcentrifuga sin ribonucleasas de 1,7 ml (Dot Scientific, Inc. o equivalente)†
- Torundas con puntas de algodón (Puritan o equivalente)†

†Nota: estos tres componentes se utilizan en el procedimiento **Seguimiento del laboratorio para comprobar la presencia de contaminación**. Consulte el apartado **PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD** en estas instrucciones de uso.

Área de preparación de los reactivos

- StrataCoolerR 96 Benchtop Cooler (Refrigerador StrataCoolerR 96)
- Manual de instrucciones del StrataCooler 96
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (placa de reacción óptica de 96 pocillos de Abbott)

Área de amplificación

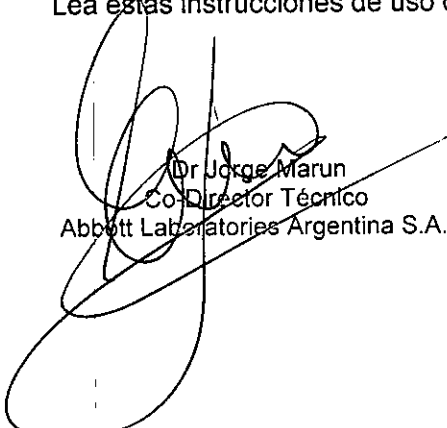
- Instrumento Abbott *m2000rt* (no de ref.: 9K15)
- Versión de software 4.0 o superior del sistema Abbott *m2000rt*
- Abbott RealTime HCV Genotype II *m2000* ROW System Combined Application CD-ROM (CD-ROM de aplicaciones combinadas del sistema *m2000*, internacional excepto para EE.UU.) (no de ref.: 08L36)
- Manual de operaciones del sistema Abbott *m2000rt* (no de ref.: B9K253)
- Anexo del Manual de operaciones del sistema Abbott *m2000rt* (no de ref.: B2N063)
- Abbott *m2000rt* Optical Calibration Kit (equipo de calibración óptica) (no de ref.: 4J71-93)
- Anexo del Manual de operaciones del sistema Abbott *m2000rt* (no de ref.: B2N393)

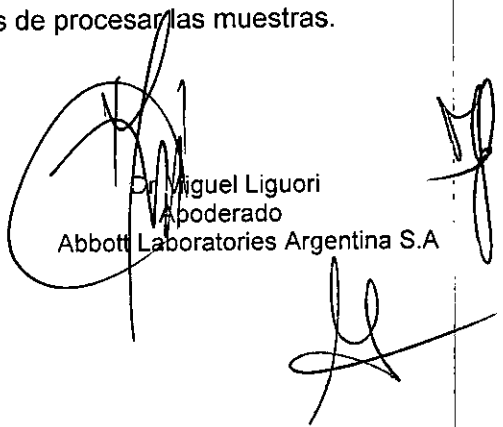
Otros materiales

- Cabina de seguridad biológica aprobada para trabajar con material infeccioso.
- Bolsas de plástico sellables

Precauciones de procedimiento

Lea estas instrucciones de uso con atención antes de procesar las muestras.


 Dr. Jorge Marun
 Co-Director Técnico
 Abbott Laboratories Argentina S.A.


 Dr. Miguel Liguori
 Aboderado
 Abbott Laboratories Argentina S.A.



Los viales del control interno, el control negativo y el control positivo Abbott RealTime HCV Genotype II son de un solo uso y se deben desechar después del uso.

Compruebe que los tubos de muestras no tengan burbujas de aire. Si las hubiese, retírelas con una punta de pipeta estéril. Las burbujas de reactivos pueden interferir en la detección correcta de los niveles de los recipientes de reactivos, provocando una aspiración insuficiente del reactivo que, a su vez, puede afectar a los resultados. **Debe tener cuidado para evitar la contaminación cruzada entre las muestras, por ello utilice una punta de pipeta estéril nueva para cada tubo.**

Utilice una sola vez las puntas de pipetas con filtro antiaerosol o pipetas desechables para dispensar las muestras, el control interno, los controles o los reactivos de amplificación. Tenga cuidado de no introducir el cilindro de la pipeta dentro del tubo o del recipiente de muestra para evitar la contaminación del interior de la pipeta mientras se pipetea.

Los procedimientos de monitorización para detectar la presencia de producto amplificado se pueden encontrar en el apartado **PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD** de estas instrucciones de uso.

Para reducir el riesgo de contaminación por ácido nucleico, limpie y desinfecte las salpicaduras de las muestras con un desinfectante tuberculicida, como el hipoclorito de sodio al 1,0% u otro desinfectante adecuado.

Los controles Abbott RealTime HCV Genotype II se deben preparar junto con las muestras que vaya a analizar. El uso de los controles Abbott RealTime HCV Genotype II es esencial para el rendimiento del ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II. Si desea más información, consulte el apartado **PROCEDIMIENTOS DEL CONTROL DE CALIDAD** en estas instrucciones de uso.

PROTOCOLO DEL ENSAYO

El almacenamiento y la preparación de todas las muestras deben llevarse a cabo en el área de preparación de muestras específica. Antes de preparar las muestras, consulte el apartado **Precauciones de manejo** en estas instrucciones de uso para obtener más información.

Para una descripción más detallada sobre cómo manejar el instrumento Abbott *m2000sp* y el instrumento Abbott *m2000rt*, consulte los capítulos Instrucciones de funcionamiento en los manuales de operaciones de los sistemas Abbott *m2000sp* y *m2000rt*.

Se debe entrenar al personal de laboratorio para que pueda manejar los instrumentos Abbott *m2000sp* y Abbott *m2000rt*. El usuario debe conocer a fondo como procesar las aplicaciones en los instrumentos y seguir las buenas prácticas de laboratorio.

1. **En cada procesamiento se pueden procesar como máximo 24 muestras o 72 reacciones (3 por muestra). En cada procesamiento se incluye un control negativo y un control positivo, por lo que solo se pueden analizar un máximo de 22 muestras de pacientes por procesamiento.**

- Comprobación del volumen de muestra. El volumen de muestra mínimo del ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II y los requisitos de las gradillas asociados para el sistema Abbott *m2000sp* son los siguientes:

Dr. Jorge Marun
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

Dr. Miguel Liguori
Apoderado
Abbott Laboratories Argentina S.A.



Volumen de muestra mínimo
para la aplicación del ensayo

Abbott RealTime HCV
Genotype II

Gradillas	Diámetro del tubo*	0,5 ml
13 mm	11,6 mm - 14,0 mm	1,0 ml
16 mm	15,0 mm - 16,0 mm	1,3 ml
13 mm	Tubo de reacción	0,8 ml

*Se refiere al diámetro exterior del tubo de recogida de muestras

- Si están congeladas, descongele las muestras a una temperatura de entre 15°C y 30°C o de entre 2°C y 8°C.
Una vez descongelados, los controles del ensayo se pueden almacenar a una temperatura entre 2°C y 8°C hasta 6 horas antes de su uso.
 - Antes del uso, mezcle con un vortex las muestras tres veces durante 2 a 3 segundos. **Asegúrese de que no haya burbujas de aire ni espuma.** En el caso de que las hubiera, retírelas con una punta de pipeta estéril nueva para cada tubo. **Antes del análisis, las muestras que presenten partículas en suspensión o turbidez se deben aclarar por centrifugación a 2 000g durante 5 minutos.** Dispense una alícuota de cada muestra en tubos o frascos limpios, en caso necesario.
Consulte el Manual de operaciones del sistema Abbott m2000sp para obtener información sobre los tamaños de los tubos. Evite tocar el interior de los tapones de los tubos al abrirlos.
2. Descongele los controles del ensayo y el control interno a una temperatura de 15°C a 30°C o de 2°C a 8°C; véase el apartado **PROCEDIMIENTOS DEL CONTROL DE CALIDAD** de estas instrucciones de uso.
 - Una vez descongelados, los controles del ensayo y el control interno se pueden almacenar a una temperatura de 2°C a 8°C hasta 24 horas antes de su uso.
 - Antes del uso, mezcle con un vortex cada control tres veces durante 2 a 3 segundos. **Asegúrese de que no haya burbujas de aire ni espuma.** En el caso de que las hubiera, retírelas con una punta de pipeta estéril nueva para cada tubo. Asegúrese de que el contenido se encuentre en el fondo después de mezclar con el vortex dando unos golpecitos al tubo sobre la mesa de trabajo para que el líquido se desplace al fondo.
 3. Descongele los reactivos de amplificación a una temperatura entre 15°C y 30°C o entre 2°C y 8°C y almacénelos a una temperatura entre 2°C y 8°C hasta que los necesite para el procedimiento de amplificación de la mezcla. Este paso se puede iniciar antes de completar el procedimiento de preparación de la muestra.

No agite en el vortex los envases de reactivos de amplificación.

- Una vez descongelados, los reactivos de amplificación se pueden almacenar a una temperatura entre 2 °C y 8 °C hasta 24 horas si no los va a utilizar de inmediato.

Dr Jorge Marín
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

Dr Miguel Liguori
Apoderado
Abbott Laboratories Argentina S.A.

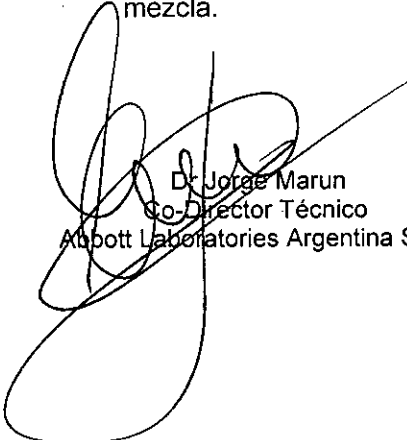


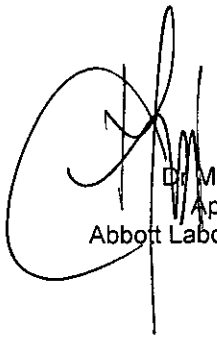
NOTA: utilice un frasco de tampón *mLysis* y dos viales del control interno para el procesamiento de hasta 24 muestras.
Cada muestra se analiza con cada uno de los tres envases de reactivo de amplificación *RealTime HCV Genotype II*. Utilice cada uno de los envases de reactivo de amplificación *RealTime HCV Genotype II A, B y C* para el procesamiento de hasta 24 muestras.

Para la preparación de muestras con el instrumento Abbott *m2000sp*, siga los pasos 4 a 16.

Consulte el capítulo Protocolo de extracción en el manual Protocolo de extracción manual de muestras para los ensayos Abbott *RealTime HCV Genotype II* para obtener información sobre el método de la preparación manual de las muestras.

4. Invierta con suavidad los frascos de Abbott *mSample Preparation* (preparación de muestras) para garantizar una solución homogénea. Si observa cristales en cualquiera de los frascos de reactivo al abrirlos, deje que el reactivo se equilibre a la temperatura ambiente hasta que los cristales desaparezcan. No utilice los reactivos hasta que los cristales se hayan disuelto.
5. Antes del uso, mezcle con un vortex cada frasco del control interno tres veces durante 2 a 3 segundos.
6. Utilice una **PIPETA PARA USO EXCLUSIVO CON EL CONTROL INTERNO** calibrada y de precisión para añadir 2 000 µl de control interno a cada frasco de tampón *mLysis*. Mezcle invirtiendo suavemente el recipiente de 5 a 10 veces para minimizar la formación de espuma.
7. Coloque el control negativo, el control positivo y las muestras de paciente en la gradilla de muestras del instrumento Abbott *m2000sp*.
8. Coloque los tubos de reacción de 5 ml en el subsistema de gradillas de 1 ml del sistema *m2000sp*.
9. Coloque los portagradillas con los reactivos del Abbott *mSample Preparation System* (sistema de preparación de muestras) y la Abbott 96 Deep-Well Plate (placa de 96 pocillos profundos) sobre la mesa de trabajo del sistema Abbott *m2000sp*, tal y como se describe en el capítulo Instrucciones del funcionamiento del Manual de operaciones del sistema Abbott *m2000sp*.
10. Desde la ventana Run Sample Extraction (procesamiento de extracción de la muestra), seleccione el archivo de aplicación adecuado que corresponda con el volumen de muestra que este analizando. Inicie el protocolo de extracción de muestra siguiendo las instrucciones descritas en el capítulo Instrucciones de funcionamiento del Manual de operaciones del sistema *m2000sp*.
Después del protocolo de extracción de muestras, las muestras procesadas se pueden almacenar en la placa de 96 pocillos profundos antes de iniciar el protocolo de adición de la mezcla del sistema Abbott *m2000sp*:
 - hasta 4 horas a una temperatura entre 2 °C y 30 °C
 - hasta 7 días a una temperatura igual o inferior a -20 °C
 - Descongele las muestras procesadas antes de iniciar el protocolo de adición de mezcla.


Dr. Jorge Marun
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.


Dr. Miguel Liguori
Apoderado
Abbott Laboratories Argentina S.A.



NOTA: cámbiese los guantes antes de manejar los reactivos de amplificación.

11. Cargue los envases de los reactivos de amplificación (A, B y C) y los tres frascos de mezcla en la mesa de trabajo del *m2000sp* una vez completada la preparación de la muestra. Cargue los tres envases de reactivos de amplificación (A, B y C) en las posiciones de reactivos (1, 2 y 3), respectivamente.
 - Cada uno de los tres envases de reactivos de amplificación RealTime HCV Genotype II puede realizar hasta 24 reacciones.
 - Asegúrese de que los reactivos de amplificación estén completamente descongelados antes de su uso.
 - Antes de abrir los reactivos de amplificación, asegúrese de que el contenido se encuentre en el fondo del tubo dando unos golpecitos al tubo en posición vertical sobre la mesa de trabajo.
 - Retire y deseche los tapones de los tubos de amplificación.
12. Desde la pantalla Run Master Mix Addition (procesamiento de la adición de la mezcla) seleccione la placa de pocillos profundos que corresponda al protocolo de extracción de muestras. Inicie el protocolo de adición de la mezcla del sistema Abbott *m2000sp*.
Siga las instrucciones descritas en el capítulo Instrucciones de funcionamiento del Manual de operaciones del sistema Abbott *m2000sp*.

NOTA: se debe iniciar el protocolo *m2000rt* (paso 16) antes de que hayan transcurrido 90 minutos después de la iniciación del protocolo de adición de la mezcla (paso 12).

Área de amplificación

13. Encienda e inicie el instrumento Abbott *m2000rt* en la zona de amplificación.
 - **NOTA: el instrumento Abbott *m2000rt* tarda 15 minutos en calentarse.**

NOTA: quítese los guantes antes de volver a la zona de preparación de muestra.

14. Coloque la placa de reacción óptica en la base soporte para placas una vez que el instrumento Abbott *m2000sp* haya completado la adición de muestras y de mezcla.
15. Selle la placa de reacción óptica de 96 pocillos siguiendo las instrucciones del Manual de operaciones del sistema Abbott *m2000sp*, capítulo Instrucciones de funcionamiento. Exporte los resultados de la placa de PCR completos a un CD (o directamente a un sistema *m2000rt* a través de la red).
16. Coloque la placa de reacción óptica de 96 pocillos en el instrumento Abbott *m2000rt*. Importe las peticiones de ensayo del sistema *m2000sp* mediante un CD (o directamente de un sistema *m2000rt* a través de la red) mediante las instrucciones de petición de importación descritas en el capítulo Instrucciones de funcionamiento del Manual de operaciones del sistema Abbott *m2000rt*.

Los usuarios que utilicen el método de preparación manual de muestras deben seguir con los pasos 17 a 26.

17. Prepare las mezclas de amplificación según las instrucciones siguientes:

Dr. Jorge Marín
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

Dr. Miguel Liguori
Apoderado
Abbott Laboratories Argentina S.A.



- Cada uno de los tres envases de reactivos de amplificación RealTime HCV Genotype II puede realizar hasta 24 reacciones.
- Antes de abrir los reactivos de amplificación, asegúrese de que el contenido se encuentre en el fondo del tubo dando unos golpecitos al tubo en posición vertical sobre la mesa de trabajo.
- Prepare las mezclas utilizando una **PIPETA PARA USO EXCLUSIVO CON EL REACTIVO** para añadir 251 µl de HCV Genotype II Activation Reagent [reactivo de activación] (reactivo 1) y 726 µl de HCV Genotype II Oligonucleotide Reagent [reactivo de oligonucleótidos] (reactivo 2) juntos en los frascos de Thermostable rTth Polymerase Enzyme [enzima polimerasa termoestable rTth] (reactivo 3).

Mezcla A	Mezcla B	Mezcla C
Reactivo de activación 251 µl	Reactivo de activación 251 µl	Reactivo de activación 251 µl
726 µl HCV Genotype II Oligonucleotide Reactivo A	726 µl HCV Genotype II Oligonucleotide Reactivo B	726 µl HCV Genotype II Oligonucleotide Reactivo C

- Mezcle los frascos de la mezcla invirtiéndolos 5 veces y agitándolos una vez durante 5 a 10 segundos en un vortex. Una vez mezclados en el vortex, asegúrese de que el contenido se encuentre en el fondo del tubo dando unos golpecitos al tubo en posición vertical sobre la mesa de trabajo.
- Coloque la placa de reacción óptica de 96 pocillos en el refrigerador StrataCooler 96, tal y como se indica en el manual de instrucciones del StrataCooler 96.
- Encienda e inicie el instrumento Abbott *m2000rt* en la zona de amplificación.
 - **NOTA: el instrumento Abbott *m2000rt* tarda 15 minutos en calentarse.**

NOTA: quítese los guantes antes de volver a la zona de preparación de muestra.

- Con una **PIPETA PARA USO EXCLUSIVO CON LA MEZCLA**, dispense alícuotas de 40 µl de cada mezcla en la placa de reacción de 96 pocillos según el DIAGRAMA A, expuesto a continuación. Transfiera todas las alícuotas de la mezcla A, seguido de todas las alícuotas de la mezcla B y después todas las alícuotas de la mezcla C. Se puede utilizar una punta de pipeta para todas las adicciones de una única mezcla. Compruebe visualmente que se haya dispensado 40 µl en cada pocillo.

Dr. Jorge Marín
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

Dr. Miguel Liguori
Apoderado
Abbott Laboratories Argentina S.A.



DIAGRAMA A DE LA PLACA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	A	B	C	A	B	C	A	B	C			
B	A	B	C	A	B	C	A	B	C			
C	A	B	C	A	B	C	A	B	C			
D	A	B	C	A	B	C	A	B	C			
E	A	B	C	A	B	C	A	B	C			
F	A	B	C	A	B	C	A	B	C			
G	A	B	C	A	B	C	A	B	C			
H	A	B	C	A	B	C	A	B	C			

NOTA: se debe iniciar el protocolo *m2000rt* (paso 26) antes de que hayan transcurrido 90 minutos después de la iniciación del protocolo de adición de la mezcla (paso 21).

22. Traslade la placa de reacción óptica de 96 pocillos (Abbott 96 Well Optical Reaction Plate) del refrigerador StrataCooler 96 a la zona de preparación de la muestra.

NOTA: quítese los guantes antes de volver a la zona de preparación de muestra.
Área de preparación de muestras

23. En el área de preparación de muestras, transfiera 20 µl del eluido de muestra a la placa de reacción óptica de 96 pocillos en el refrigerador StrataCooler 96 según se indica en el DIAGRAMA B siguiente. **Utilice para cada transferencia del eluido de muestra una punta de pipeta nueva.** Durante la transferencia de cada muestra, mezcle la reacción pipeteando y dispensando de 3 a 5 veces. Compruebe visualmente que se hayan dispensado 60 µl en cada pocillo.

DIAGRAMA B DE LA PLACA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CN	CN	CN	7	7	7	15	15	15			
B	CP	CP	CP	8	8	8	16	16	16			
C	1	1	1	9	9	9	17	17	17			
D	2	2	2	10	10	10	18	18	18			
E	3	3	3	11	11	11	19	19	19			
F	4	4	4	12	12	12	20	20	20			
G	5	5	5	13	13	13	21	21	21			
H	6	6	6	14	14	14	22	22	22			

24. Coloque la placa de reacción óptica de 96 pocillos en la Abbott Splash Free Support Base (base soporte para placas) y selle la placa de acuerdo con las instrucciones

Dr. Jorge Marun
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

Dr. Miguel Liguori
Apoderado
Abbott Laboratories Argentina S.A.



del capítulo Instrucciones de funcionamiento del Manual de operaciones del sistema Abbott *m2000sp*.

Área de amplificación

25. Centrifugue la placa de reacción óptica de 96 pocillos en la base soporte para placas a 5 000g durante 5 minutos.
26. Seleccione el fichero de la aplicación correspondiente al volumen de muestra analizado e introduzca la petición de análisis de la muestra según lo indicado en el capítulo Instrucciones de funcionamiento del Manual de operaciones del sistema Abbott *m2000rt*.

PROTOCOLO DEL SISTEMA ABBOTT *m2000rt*

Para una descripción detallada de cómo realizar el protocolo del sistema Abbott *m2000rt*, consulte el capítulo Instrucciones de funcionamiento del Manual de operaciones del sistema Abbott *m2000rt*.

1. Coloque la placa de reacción óptica de 96 pocillos en el sistema Abbott *m2000rt* e inicie el protocolo del ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II según lo descrito en el Manual de operaciones del sistema Abbott *m2000rt*. El procesamiento en el sistema Abbott *m2000rt* tarda aproximadamente 2 horas y 45 minutos.
2. Una vez que el instrumento Abbott *m2000rt* ha completado el protocolo de amplificación y detección, retire la placa de reacción óptica de 96 pocillos y deséchela según las instrucciones descritas en el capítulo Precauciones de manejo de estas instrucciones de uso.

PROCEDIMIENTOS DESPUES DEL PROCESAMIENTO

1. Retire la placa de 96 pocillos profundos, los tubos de reacción, los recipientes de reactivos y los frascos de mezcla de la mesa de trabajo y deséchelos según lo indicado en el Manual de operaciones del sistema Abbott *m2000sp*.
2. Limpie el refrigerador StrataCooler 96 o el Eppendorf PCR-Cooler, tal y como se describe en el manual de instrucciones y devuélvalo al área de preparación de los reactivos.
3. Coloque la placa de reacción óptica de 96 pocillos en una bolsa de plástico sellable y deséchela según lo descrito en el Manual de operaciones del sistema Abbott *m2000rt* junto con los guantes que haya utilizado para manejar la placa.
4. Limpie la base soporte para placas antes de volver a utilizarla, tal y como se describe en el Manual de operaciones del sistema Abbott *m2000rt*.
5. Los usuarios que utilicen el método manual de preparación de muestras, pueden consultar el capítulo Limpieza en el manual Protocolo de extracción manual de muestras para los ensayos Abbott RealTime HCV Genotype II.

PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD

Calibración óptica del sistema Abbott *m2000rt*

Si desea más información sobre cómo realizar una calibración óptica en el sistema Abbott *m2000rt*, consulte el capítulo Procedimientos de calibración del Manual de operaciones del sistema Abbott *m2000rt*.

Se requiere una calibración óptica del instrumento Abbott *m2000rt* para conseguir una medición precisa y la diferenciación entre los fluoróforos durante el procesamiento del ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II.

Dr. Jorge Marín
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

Dr. Miguel Liguori
Apoderado
Abbott Laboratories Argentina S.A.



Las siguientes placas de calibración óptica del sistema Abbott *m2000rt* se utilizan para calibrar el instrumento Abbott *m2000rt* para procesar el ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II:

- Placa FAM (carboxifluoresceína)
- Placa ROX (carboxi-X-rodamina)
- Placa VIC (fluoroforo patentado)
- Placa NED (fluoroforo patentado)
- Placa Cy5 (cianina)

Detección de la inhibición

Se introduce una cantidad constante y definida de ácido nucleico de control interno en cada muestra y control al comienzo de la preparación de las muestras y se mide con el instrumento Abbott *m2000rt* para demostrar el procesamiento correcto de la muestra y la validez del ensayo. El control interno consiste en una secuencia de RNA no relacionada con las secuencias diana del VHC.

La mediana de los ciclos de amplificación en que se detecta la señal fluorescente de la secuencia diana del control interno en las muestras de los controles positivo y negativo establece un intervalo de validez Ct del control interno dentro del cual deben estar todas las muestras procesadas posteriormente a ese procesamiento.

Si una muestra o un control no cumplen con la especificación correspondiente del control interno, se visualiza un error. Se deben volver a analizar las muestras cuyo valor Ct de control interno sea superior al intervalo establecido desde el paso de preparación de la muestra. Consulte el apartado **RESULTADOS** en estas instrucciones de uso y el Manual de operaciones del sistema Abbott *m2000rt* para ver una lista de los códigos de error y las alertas.

Controles positivo y negativo

En cada petición de ensayo se incluyen un control positivo y otro negativo para evaluar la validez del procesamiento. Se visualiza un error cuando un resultado del control no es válido. Si desea más información sobre las medidas correctivas de una alerta de error, consulte el Manual de operaciones del sistema Abbott *m2000rt*. Si los controles positivo o negativo no son válidos, se deben volver a procesar todas las muestras y los controles de ese procesamiento desde el paso de la preparación de las muestras.

No se debe detectar presencia de VHC en el control negativo. La presencia de VHC en el control negativo es indicio de contaminación por otras muestras o por producto amplificado durante la preparación de la muestra o durante la preparación de la placa de reacción óptica de 96 pocillos. Para evitar la contaminación, limpie los instrumentos Abbott *m2000sp* y Abbott *m2000rt* según el manual de operaciones y repita el procesamiento de la muestra para los controles y las muestras según el apartado **Precauciones del procedimiento** de estas instrucciones de uso. Si los controles negativos son persistentemente reactivos, póngase en contacto con el Centro de Asistencia Técnica de Abbott Molecular.

Seguimiento del laboratorio para comprobar la presencia de contaminación

Se recomienda realizar este análisis al menos una vez al mes para comprobar si se ha producido contaminación por producto amplificado en las superficies y el equipo del laboratorio. Es muy importante analizar todas las zonas de trabajo que puedan haber estado expuestas a muestras procesadas, controles y/o a producto amplificado. Esto

Dr. Jorge Marín
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

36

Dr. Miguel Liguori
Apoderado
Abbott Laboratories Argentina S.A.



incluye los objetos normalmente utilizados, tales como las pipetas, las teclas de función de los sistemas Abbott *m2000sp* y Abbott *m2000rt*, las superficies de trabajo del laboratorio, las centrifugas y las microcentrifugas.

1. Añada 0,8 ml de agua sin ribonucleasas en un tubo de microcentrifuga de 1,7 ml sin ribonucleasas.
2. Empape la punta de una torunda de algodón (Puritan o equivalente) en el agua sin ribonucleasas del tubo de microcentrifuga.
3. Con esta torunda de algodón empapada limpie con un movimiento de barrido el área que desea monitorizar. Coloque la torunda en el tubo de microcentrifuga.
4. Agite la punta en el agua sin ribonucleasas unas 10 veces y presione el aplicador en la pared del tubo de forma que el líquido se desprenda y caiga dentro de la solución en el fondo del tubo de microcentrifuga. Deseche la torunda.
5. Tape el tubo de la microcentrifuga y agítelo en el vortex.
6. Pipetee 0,5 ml de *mWash 1* buffer (tampón de solución de lavado 1) en un tubo limpio utilizando la pipeta de uso exclusivo para el control interno.
7. Añada 20 µl de *mWash 1* buffer (tampón de solución de lavado 1) en cada tubo de microcentrifuga.
8. Cierre el tubo de microcentrifuga con la tapa.
9. Analice la muestra según lo descrito en el apartado Procedimiento del ensayo en estas instrucciones de uso.
 - Transfiera el líquido del tubo de microcentrifuga a un tubo de reacción de 5 ml.
 - Añada agua sin ribonucleasas hasta alcanzar un volumen total de 1,5 ml.
10. Si se detecta ácido nucleico del VHC en la torunda de la muestra, hay presencia de contaminación.
11. Si se detecta ácido nucleico del VHC en el equipo, siga las directrices de descontaminación y limpieza indicadas en el Manual de operaciones del equipo. Si se detecta ácido nucleico del VHC en las superficies de trabajo, limpie las zonas contaminadas con solución de hipoclorito de sodio al 1,0% (v/v), seguido de etanol al 70% o agua.

NOTA: las soluciones de cloro pueden dejar marcas en el equipo y en el metal. Utilice cantidades suficientes o repita las aplicaciones de etanol al 70% o agua hasta que ya no sean visibles los residuos de cloro.
12. Repita el análisis de la zona contaminada siguiendo los pasos 1 a 9.

RESULTADOS

El ensayo Abbott *RealTime HCV Genotype II* es un ensayo cualitativo.

Los controles Abbott *RealTime HCV Genotype II* se utilizan para establecer la validez del procesamiento para el ensayo *HCV Genotype II*.

El ensayo Abbott *RealTime HCV Genotype II* utiliza tres determinaciones del punto de corte para cada respuesta del ensayo a fin de clasificar exactamente los genotipos del VHC:

- El ciclo umbral (Ct),
- La diferencia con el número Ct, comparada con el número de ciclos del valor umbral de todas las sondas del VHC, para cada una de las sondas específicas del genotipo (1, 1a, 1b, 2, 3, 4, 5 y 6) y
- El cociente máximo (MR).

La grafica de la amplificación de la PCR representa la intensidad de la fluorescencia medida a lo largo de los ciclos de termociclado. El ciclo umbral (Ct) es el número de

Dr Jorge Marín
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

37
Dr Miguel Liguori
Apoderado
Abbott Laboratories Argentina S.A.



ciclos en el que se empieza a detectar un incremento de la curva de fluorescencia con respecto a la señal base de fluorescencia. Cada muestra positiva para el VHC debe dar un valor Ct de todas las sondas positivo para el VHC así como un valor Ct específico del genotipo positivo.

Un valor Ct de sonda específico para el genotipo se considera positivo solo si queda dentro de un número de ciclos especificado con respecto al valor Ct de todas las sondas del VHC.

El aumento de fluorescencia de un ciclo a otro se determina por la cinética de la reacción de PCR. El valor del cociente máximo o valor MR, se refiere al rendimiento de la reacción de PCR. Si el valor MR es mayor que un valor predeterminado, entonces la reacción de amplificación es positiva. Si el valor MR no alcanza el valor predeterminado, la reacción es negativa.

Se dice que una muestra contiene un genotipo del VHC cuando se superan los umbrales Ct y MR y cuando el valor Ct específico del genotipo queda dentro del número de ciclos predeterminado del valor Ct del VHC para la misma muestra. Se pueden detectar múltiples genotipos simultáneamente.

Comunicación e interpretación de los resultados

El instrumento Abbott *m2000rt* comunica automáticamente los resultados Genotype Call (asignación del genotipo) a la estación de trabajo Abbott *m2000rt*. Si los controles son válidos, los resultados y las interpretaciones del ensayo serán similares al ejemplo siguiente:

Ubicación	ID de la muestra	Tipo de muestra	Resultado	Interpretación	Aler-tas	Código de error
A1	HCV-GT_NEG	Control	Passed (válido)			
B1	HCV-GT_POS	Control	Passed (válido)			
C1	PM1		1 1a			
D1	PM2		1 1b			
E1	PM3		HCV not detected ^a (VHC no detectado)			
F1	PM4		2 ^b			
G1	PM5		3	Reactividad con Cc		
H1	PM6		HCV	Indeterminado ^c		

- a HCV not detected (VHC no detectado) – el ensayo no detecto el VHC.
- b Resultado del genotipo del VHC (p.ej.: 2) – el ensayo detecto el VHC y da el resultado del genotipo.
- c Resultado del genotipo del VHC (p.ej.: 3) con una interpretación de la reactividad con otro genotipo (p.ej.: 2) – el ensayo detecto el VHC y da el resultado del genotipo. Se observó una señal de genotipo adicional. Basándose en el patrón de reactividad cruzada conocido y sabiendo que las infecciones mixtas se observan raramente, el genotipo adicional se interpreta como reactivo pero no se ha incluido en la columna de resultados. Consulte el

Dr. Jorge Marun
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

Dr. Miguel Liguori
Apoderado
Abbott Laboratories Argentina S.A.



apartado "Reactividad cruzada de las sondas de los genotipos del VHC" para más información.

Nota: existen tres sondas diferentes para la detección del genotipo 1 y de los subtipos 1a y 1b: sonda de genotipo 1, sonda 1a y sonda 1b. El genotipo 1 se considera detectado si ha habido hibridación con cualquiera de estas tres sondas.

Nota: excluyendo que haya reactividad cruzada, el ensayo detecta infecciones mixtas y comunica los resultados de los múltiples genotipos en la columna de resultados.

- d Resultados de VHC con una interpretación de indeterminado – el ensayo detecto el VHC, pero no da el resultado del genotipo.

Si desea más información sobre los códigos de error y las alertas, consulte el Manual de operaciones del sistema Abbott *m2000rt*.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

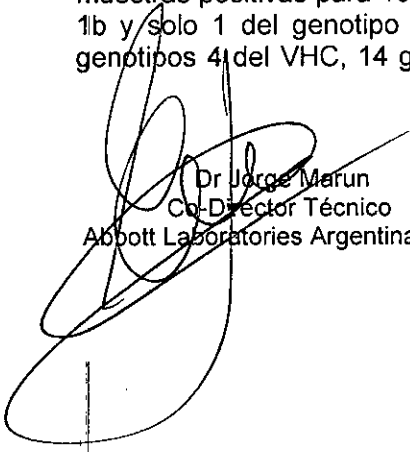
- **PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNOSTICO IN VITRO.**

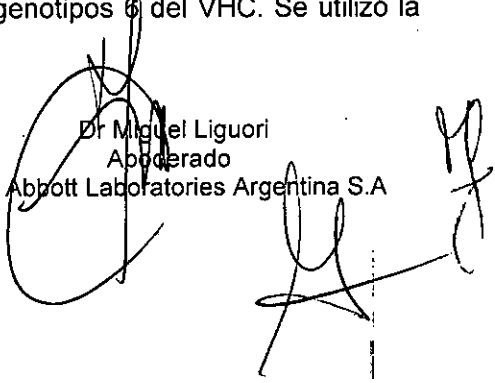
- El rendimiento óptimo de este ensayo requiere la recogida, el manejo, la preparación y el almacenamiento adecuados de las muestras (consulte el apartado **RECOGIDA, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS AL LABORATORIO** en estas instrucciones de uso).
- Se deben utilizar muestras de suero y plasma humanos (recogidas en tubos con ACD-A, CPD, EDTA potásico o EDTA sódico) con el ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II. No se ha validado el uso de otros anticoagulantes con el ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II.
- El uso del ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II queda restringido al personal entrenado en el uso de los instrumentos Abbott *m2000sp* y Abbott *m2000rt*.
- Los instrumentos y los procedimientos del ensayo reducen el riesgo de contaminación por producto amplificado. Sin embargo, la contaminación por ácido nucleico del control positivo o de las muestras se debe evitar mediante las buenas practicas de laboratorio y siguiendo adecuadamente los procedimientos especificados en estas instrucciones de uso.
- No se puede suponer que una muestra con un resultado "not detected HCV" (VHC no detectado) sea negativa para el RNA del VHC.
- Véase el apartado **Reactividad cruzada de la sonda de los genotipos del VHC** para conocer la reactividad cruzada conocida de los genotipos.
- La sonda del genotipo 6 de la 5' UTR del ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II esta diseñada para detectar muestras con genotipo 6 que pertenecen a los subtipos a y b. Esta sonda no está diseñada para detectar otros subtipos del genotipo 6 (subtipos no-a o no-b).
- Como ocurre con cualquier otro ensayo de diagnóstico, los resultados del ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II se deben interpretar junto con otros análisis clínicos de laboratorio.

CARACTERISTICAS ESPECIFICAS DEL FUNCIONAMIENTO

Exactitud

La exactitud del ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II se demostró analizando muestras positivas para 169 genotipos 1 del VHC (110 del genotipo 1a, 58 del genotipo 1b y solo 1 del genotipo 1), 41 genotipos 2 del VHC, 27 genotipos 3 del VHC, 28 genotipos 4 del VHC, 14 genotipos 5 del VHC y 12 genotipos 6 del VHC. Se utilizó la


 Dr. Jorge Marun
 Co-Director Técnico
 Abbott Laboratories Argentina S.A.


 Dr. Miguel Liguori
 Apoderado
 Abbott Laboratories Argentina S.A.



secuenciación de nucleótidos para determinar el genotipo de referencia de cada muestra analizada.

El estudio se llevó a cabo con un lote del reactivo de amplificación Abbott RealTime HCV Genotype II, un lote del control interno (IC), el control negativo y el control positivo en los instrumentos Abbott *m2000sp* y *m2000rt*.

El porcentaje de correspondencia entre la secuenciación de los nucleótidos y el ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II fue del 98,28% para la comparación general de los genotipos, del 97,27% para la comparación del subtipo 1a y del 96,55% para la comparación del subtipo 1b.

Los resultados que caracterizan la exactitud del ensayo RealTime HCV Genotype II se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1

Genotipo/ Subtipo del VHC	Número de muestras analizadas	Número de muestras identificadas correctamente	Tasa de detección (%)
1 ^a	169	169	100,00
1a ^b	110	107	97,27
1b ^c	58	56	96,55
2	41	41	100,00
3	27	27	100,00
4 ^d	28	25	89,29
5	14	14	100,00
6	12	10	83,33
1 a 6 ^e	291	286	98,28

- a Indica los análisis basados en las muestras analizadas en el sistema *m2000rt*: 1, 1a, 1b, 1/1a y 1/1b.
- b Tres muestras de 110 muestras del genotipo 1a se identificaron solamente como genotipo 1 y no como subtipo 1a.
- c Un fabricante se dio cuenta de que una muestra del genotipo 1b se había excluido del análisis porque esta se había identificado por secuenciación como genotipo 1 solamente. Dos muestras de las 58 muestras restantes del genotipo 1b se identificaron como genotipo 1 y no como subtipo 1b.
- d El genotipo 4 se detectó en todas las 28 muestras. Además el genotipo 1 se detectó en 3 de las muestras que no se pudieron diagnosticar debido a las dos vías de reactividad cruzada.
- e Indica análisis basados en los genotipos 1, 2, 3, 4, 5, y 6 combinados.

Reactividad cruzada de las sondas de los genotipos del VHC

Las secuencias de las sondas que hibridan con la región 5' UTR del ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II se analizaron con las secuencias de la región 5' UTR del VHC de la base de datos situada en <http://hcv.lanl.gov/content/hcv-db/index>. Se consideró que había reactividad cruzada si concordaban perfectamente la secuencia de DNA de una sonda que detecta un genotipo con la secuencia de la región 5' UTR perteneciente a un genotipo diferente. Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Dr. Jorge Marun
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

Dr. Miguel Liguori
Apoderado
Abbott Laboratories Argentina S.A.



Secuencias 5' UTR del VHC de la base de datos						
Sondas	GT 1 313 Secuencias analizadas	GT 2 243 Secuencias analizadas	GT 3 499 Secuencias analizadas	GT 4 262 Secuencias analizadas	GT 5 19 Secuencias analizadas	GT 6 93 Secuencias analizadas
GT 1	N/A	Reactividad cruzada 1,2%*	Reactividad cruzada 0,8%*	Reactividad cruzada 1,9%*	Sin reactividad cruzada	Reactividad cruzada 52,6%*
GT 2	Sin reactividad cruzada	N/A	Sin reactividad cruzada	Sin reactividad cruzada	Sin reactividad cruzada	Sin reactividad cruzada
GT 2v	Sin reactividad cruzada	N/A	Reactividad cruzada 1,4%	Sin reactividad cruzada	Sin reactividad cruzada	Sin reactividad cruzada
GT 3	Reactividad cruzada 0,32%*	Sin reactividad cruzada	N/A	Sin reactividad cruzada	Sin reactividad cruzada	Sin reactividad cruzada
GT 3v	Reactividad cruzada 0,32%*	Sin reactividad cruzada	N/A	Sin reactividad cruzada	Sin reactividad cruzada	Sin reactividad cruzada
GT 4	Reactividad cruzada 1,9%*	Reactividad cruzada 0,4%*	Sin reactividad cruzada	N/A	Sin reactividad cruzada	Reactividad cruzada 1,0%*
GT 5	Reactividad cruzada 0,32%*	Reactividad cruzada 0,8%*	Sin reactividad cruzada	Reactividad cruzada 1,9%*	N/A	Sin reactividad cruzada
GT 6	Sin reactividad cruzada	Sin reactividad cruzada	Sin reactividad cruzada	Sin reactividad cruzada	Sin reactividad cruzada	N/A

* Porcentaje de cepas detectadas por sonda.

La tabla siguiente muestra los resultados e interpretaciones obtenidos del ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II para cada una de las reactividades cruzadas conocidas de las sondas que hibridan la región 5' UTR. Este análisis se basa en los patrones de reactividad cruzada conocidos del VHC y en el hecho de que las infecciones mixtas se observan raramente.¹⁷ Es importante destacar que otros resultados de genotipos mixtos que no aparecen en esta tabla, serán comunicados en el software del ensayo.

Dr. Jorge Marun
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

Dr. Miguel Liguori
Apoderado
Abbott Laboratories Argentina S.A.



Detectado	Resultado	Interpretación
1 1a 3	1 1a	Reactividad con 3
1 1a 4	1 1a	Reactividad con 4
1 1a 5	1 1a	Reactividad con 5
1 1b 3	1 1b	Reactividad con 3
1 1b 4	1 1b	Reactividad con 4
1 1b 5	1 1b	Reactividad con 5
1 2	2	Reactividad con 1
1 3 ^a	1 3	
1 4 ^a	1 4	
1 4 5 ^b	4	Reactividad con 1 y 5
1 5	1	Reactividad con 5
1 6	6	Reactividad con 1
1a 3	1a	Reactividad con 3
1a 4	1a	Reactividad con 4
1a 5	1a	Reactividad con 5
1b 3	1b	Reactividad con 3
1b 4	1b	Reactividad con 4
1b 5	1b	Reactividad con 5
2 3	3	Reactividad con 2
2 4	2	Reactividad con 4
2 5	2	Reactividad con 5
4 5	4	Reactividad con 5
4 6	6	Reactividad con 4

^a Si se detectan 1, 3 o 1, 4, no se diagnosticaran. Esto es debido a que la reactividad cruzada es de dos vías. En el caso de un resultado 1, 4, la sonda que hibrida al genotipo 1 tiene una reactividad cruzada con algunos genotipos 4 aislados, mientras que la sonda que hibrida al genotipo 4 tiene una reactividad cruzada con algunos genotipos 1 aislados. El mismo principio es válido para los resultados 1, 3.

^b La detección de 1, 4, 5 no se incluye en los patrones de reactividad cruzada conocidos en la base de datos de secuencias de nucleótidos.

Resultado de la observación práctica.

La sonda que hibrida al genotipo 1 en la región 5' UTR del ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II no presenta reactividad cruzada con el genotipo 6a, no obstante, tiene reactividad cruzada con muestras del genotipo 6b, así como otros subtipos no 6a/6b del genotipo 6.

La prevalencia del genotipo 6 varía en el mundo. La prevalencia del genotipo 6 del VHC puede alcanzar un 39,1% en países tales como Tailandia, Indonesia, Myanmar, Vietnam y algunas regiones de China (Hong Kong). La prevalencia del genotipo 6 en otros países es mucho más baja y varía de entre un 1,8% y un 3,2% en Estados Unidos

Dr. Jorge Marun
 Co-Director Técnico
 Abbott Laboratories Argentina S.A.

Dr. Miguel Liguori
 Apoderado
 Abbott Laboratories Argentina S.A.



y Canadá; a menos del 1% en Europa, Oriente próximo, África, Sudamérica y la mayoría de los países de Asia (Japón, Corea, Filipinas, India, Australia, Uzbekistán).

Límite de detección

El límite de detección (LD) se define como la concentración de RNA del VHC detectada y los genotipos del VHC identificados exactamente con una probabilidad del 95% o superior.

El límite de detección se determinó analizando un conjunto de paneles con genotipos del VHC en los cuales la concentración se ajustó a 500 UI/ml. Las muestras del panel eran muestras de pacientes con VHC cuantificado y genotipado, diluidas en plasma humano negativo para el VHC a la concentración esperada.

Los estudios se llevaron a cabo con un lote del reactivo de amplificación Abbott RealTime HCV Genotype II, un lote del control interno (IC), el control negativo y el control positivo en tres sistemas m2000.

Límite de detección

El límite de detección para el ensayo RealTime HCV Genotype II es de 500 UI/ml cuando existe una coincidencia exacta entre los cebadores/ sonda del ensayo y la secuencia de nucleótidos de la muestra.

Los resultados que caracterizan la sensibilidad analítica del ensayo RealTime HCV Genotype II se resumen en la Tabla 2.

Tabla 2

Genotipo/ Subtipo del VHC	Muestras analizadas	Muestras identificadas correctamente	Tasa de detección (%)
1 ^a	60	60	100,00
1a	30	30	100,00
1b	30	30	100,00
2	60	60	100,00
3	60	60	100,00
4	60	59	98,33
5	60	60	100,00
6	60	60	100,00
1 a 6 ^b	360	359	99,72

^a Análisis basado en resultados combinados de muestras con subtipos 1a y 1b.

^b Análisis basado en resultados combinados de muestras con genotipos 1 (1a y 1b), 2, 3, 4, 5 y 6.

Detección de muestras infectadas con distintos genotipos del VHC

La capacidad para detectar muestras infectadas con distintos genotipos del VHC mediante el ensayo RealTime HCV Genotype II se demostró analizando un panel con 30 muestras de VHC con distintas combinaciones de proporción en la concentración vírica [1:1 (1×10^6 : 1×10^6 UI/ml), 1:10 (1×10^5 : 1×10^6 UI/ml) y 1:100 (1×10^4 : 1×10^6 UI/ml)].

Cada muestra fue analizada tres veces.

El ensayo requiere tres reacciones independientes para detectar los genotipos 1, 2, 3, 4, 5, 6 y los subtipos 1a y 1b. Los paneles seleccionados analizaron infecciones mixtas

Dr. Jorge Marín
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

Dr. Miguel Liguori
Aboderado
Abbott Laboratories Argentina S.A.



dentro de la reacción (por ejemplo, genotipos 1a y 3 en la reacción A, genotipos 1b y 2 en la reacción B, genotipos 4 y 5 en la reacción C) así como, infecciones mixtas entre reacciones (genotipo 1a en la reacción A y genotipo 2 en la reacción B, el genotipo 2 en la reacción B y el genotipo 5 en la reacción C, y el genotipo 1a en la reacción A y el genotipo 5 en la reacción C).

El estudio se llevó a cabo con un lote del reactivo de amplificación Abbott RealTime HCV Genotype II, un lote del control interno (IC), el control negativo y el control positivo en tres pares de instrumentos Abbott *m2000sp* y *m2000rt*.

El ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II detectó ambos genotipos de una infección mixta en 18 de 18 casos cuando la proporción de concentración vírica fue 1:1, 31 de 36 casos cuando la proporción de concentración vírica fue 1:10 y 22 de 36 casos cuando la proporción de concentración vírica fue 1:100. Es importante destacar que las muestras se contaron como detectadas si se detectaron ambos genotipos en la columna Resultados o si uno de los genotipos se detectó en la columna de Resultados y el segundo genotipo se detectó como "Reactividad" solo en la columna Interpretación.

Sustancias con capacidad de interferir

Se evaluó la susceptibilidad del ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II ante posibles interferencias por concentraciones elevadas de sustancias endógenas. Se analizaron muestras negativas para el VHC y muestras que contenían 10 000 UI/ml del genotipo 2 del VHC.

No se observó interferencia en el rendimiento del ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II en presencia de las sustancias siguientes para todas las muestras positivas y negativas para el VHC analizadas:

- Hemoglobina 500 mg/dl
- Triglicéridos 3 000 mg/dl
- Bilirrubina 20 mg/dl
- Proteínas 9 g/dl

Se analizaron antibióticos y antivíricos en concentraciones que superaban las concentraciones máximas de suero o plasma en 5 mezclas de muestras. No se observó interferencia en el rendimiento del ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II en presencia de los fármacos siguientes para todas las muestras positivas y negativas para el VHC analizadas:

Mezcla de fármacos	Fármacos analizados
1	Zidovudina, Saquinavir, Ritonavir, Azitromicina, Interferon 2a, Interferon 2b
2	Sulfato de abacavir, Amprenavir, Peginterferon alfa-2a, Peginterferon alfa-2b, Ribavirina
3	Tenofovir disoproxil fumarato, Lamivudina, sulfato de Indinavir, Ganciclovir, clorhidrato de Valganciclovir, Aciclovir
4	Estavudina, Didanosina, Lopinavir, Entecavir, Ciprofloxacina
5	Adefovir, Nelfinavir, Enfuvirtida, Valaciclovir, Nevirapina

Dr. Jorge Marun
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

Dr. Miguel Liguori
Apoderado
Abbott Laboratories Argentina S.A.



Especificidad

La especificidad del ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II se evaluó analizando 100 muestras de plasma serológicamente negativas para el VHC.

El estudio se llevó a cabo con un lote del reactivo de amplificación Abbott RealTime HCV Genotype II, un lote del control interno (IC), el control negativo y el control positivo en dos pares de instrumentos Abbott *m2000sp* y *m2000rt*.

Todas las muestras negativas analizadas se interpretaron como negativas para el RNA del VHC con el ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II. Por lo tanto, se obtuvo un 100% (100/100) de especificidad (IC del 95%: 96,38% -100,00%, basada en la distribución binomial) en este estudio.

Reactividad cruzada

Los siguientes virus y microorganismos que, potencialmente podrían presentar alguna reacción cruzada, se evaluaron con el ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II. A muestras negativas de RNA del VHC y a muestras que contenían 10 000 UI/ml del genotipo 1 del VHC se añadieron ácidos nucleicos purificados o lisados víricos de cada microorganismo o virus.

El estudio se llevó a cabo con un lote del reactivo de amplificación Abbott RealTime HCV Genotype II, un lote del control interno (IC), el control negativo y el control positivo en dos pares de instrumentos Abbott *m2000sp* y *m2000rt*.

Microorganismos y virus con posible reactividad cruzada

Microorganismo / Virus	Microorganismo / Virus
Virus de la inmunodeficiencia humana 1	Poliomavirus BK humano
Virus de la inmunodeficiencia humana 2a	Virus del papiloma humano 16
Virus T-linfotrópico humano 1	Virus del papiloma humano 18
Virus de Epstein-Barr	Flavivirus
Virus herpes simple 1	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Virus herpes simple 2	<i>Chlamydia trachomatis</i>
Citomegalovirus	<i>Candida albicans</i>
Herpesvirus humano 6B	<i>Staphylococcus aureus</i>
Herpesvirus humano 8	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Virus de la varicela zoster	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
Virus vaccinia	Virus de la hepatitis B

^a Lisado vírico del VIH-2

Dr. Jorge Marín
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

Dr. Miguel Liguori
Apoderado
Abbott Laboratories Argentina S.A.



No se observó interferencia en el funcionamiento del ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II en presencia de los organismos que podrían presentar alguna reacción cruzada en las muestras positivas y negativas analizadas.

Estudio de comparación para uso compatible

El ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II puede realizarse utilizando una de las siguientes dos opciones:

- La preparación de muestras automatizada de 0,5 ml del sistema Abbott m2000, la preparación de la mezcla y el protocolo de configuración de la placa de PCR
- La preparación manual de las muestras de 0,5 ml, la preparación de la mezcla y el protocolo de configuración de la placa de PCR.

En dos estudios representativos, se analizaron un conjunto de paneles con los genotipos 1/1a, 1/1b, 2a/c, 2v, 3, 3v, 4, 5 y 6 del VHC preparados con concentraciones de 500 UI/ml o 10 000 UI/ml.

Los estudios se llevaron a cabo con un lote de reactivos de amplificación Abbott RealTime HCV Genotype II, un lote del control interno (IC), el control negativo y el control positivo en tres pares de instrumentos Abbott m2000sp y m2000rt.

En los estudios, el uso del ensayo Abbott RealTime HCV Genotype II bien con la preparación de muestra automatizada o a bien con la manual, la preparación de la mezcla y los protocolos de configuración de la placa de PCR, consiguieron identificar los mismos genotipos del VHC con un resultado superior al 95%.

BIBLIOGRAFIA

1. Clarke B. Molecular virology of hepatitis C virus. *J Gen Virol* 1997;78:2397-410.
2. Simmonds P, Bukh J, Combet C, et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology* 2005;42:962-73.
3. EASL International Consensus Conference on Hepatitis C. Consensus Statement. *J Hepatology* 1999;30:956-61.
4. NIH Consensus and State-of-the-Science Statements. Management of Hepatitis C: 2002;19(3):1-46.
5. Myers TW, Gelfand DH. Reverse Transcription and DNA Amplification by a *Thermus thermophilus* DNA Polymerase. *Biochem* 1991;30:7661-6.
6. Higuchi R., Dollinger G., Walsh, PS, et al. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology* 1992;10:413-417.
7. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29 CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens.
8. US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, Fourth Edition. Washington, DC: US Government Printing Office, May 1999.
9. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 3rd edition. Geneva: World Health Organization, 2004.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections: Approved Guideline-Third Edition. CLSI Document M29-A3. Wayne, PA: CLSI, 2005.
11. CDC. Guidelines for the prevention of human immunodeficiency virus and hepatitis B virus to health-care and public-safety workers. *MMWR* 1989;38(S-6):16S.

Dr Jorge Marun
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

Dr Miguel Liguori
Aprobado
Abbott Laboratories Argentina S.A.



12. Sehulster LM, Hollinger FB, Dreesman GR, et al. Immunological and biophysical alteration of hepatitis B virus antigens by sodium hypochlorite disinfection. *Appl Envir Microbiol* 1981;42(5):762-7.
13. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Clinical Laboratory Waste Management: Approved Guideline – Second Edition. NCCLS Document GP5-A2. Wayne, PA: NCCLS, 2002;22(3):1-23, 32-44.
14. US Environmental Protection Agency. EPA Guide for Infectious Waste Management Publication No. EPA/530-SW-86-014. Washington, DC: US Environmental Protection Agency, 1986:1-1-5-5, R1-R3, A1-A24.
15. Davis GL, Lau, JY, Urdea MS, et al. Quantitative detection of hepatitis C virus RNA with a solid-phase signal amplification method: Definition of optimal conditions for specimen collection and clinical application in interferon-treated patients. *Hepatology* 1994(6):1337-41.
16. Cuypers HTM, Bresters, D, Winkel IN, et al. Storage conditions of blood samples and primer selection affect the yield of cDNA polymerase chain reaction products of hepatitis C virus. *J Clin Micro* 1992;30(12):3220-4.
17. Murphy D, Willems, B, Deschenes M, et al. Use of sequence analysis of the NS5B region for routine genotyping of hepatitis C virus with reference to C/E1 and 5' untranslated region sequences. *J Clin Microbiol* 2007;45:1102-12.

Este producto no está destinado para el análisis o para el cribado de muestras mezcladas de más de una persona ni otro tipo de cribado de sangre o plasma. Este producto está autorizado por Novartis Vaccines and Diagnostics, Inc y está cubierto por una o más de las siguientes patentes estadounidenses 5,714,596; 5,712,088; 5,863,719; 5,372,928; 5,851,759; 6,074,816 o sus equivalentes extranjeras.

LA COMPRA DE ESTE PRODUCTO PERMITE AL COMPRADOR SU USO PARA LA AMPLIFICACION DE SECUENCIAS DE ACIDO NUCLEICO Y LA DETECCION DE SECUENCIAS DE ACIDO NUCLEICO EN EL DIAGNOSTICO *IN VITRO* HUMANO. NO SE CONCEDE NINGUNA PATENTE GENERAL NI NINGUNA OTRA LICENCIA DE NINGUN TIPO DISTINTA AL DERECHO DE USO DEL COMPRADOR ESPECIFICADO.

NO SE PROHIBE LA REVENTA DE ESTE PRODUCTO.

Armored RNA es una tecnología patentada desarrollada en conjunto por Ambion, Inc. y Cenetron Diagnostics, LLC. Patentes de EE.UU. números 5,677,124; 5,919,625; 5,939,262 y patentes pendientes.

La venta de este producto está sujeta a un acuerdo de licencia con Epoch Biosciences para su uso exclusivo con el genotipado del virus de la hepatitis C en humanos y no debe usarse con ningún otro fin sea de investigación, comercial, clínico, diagnóstico u otro uso.

Abbott *m2000*, *m2000sp* y *m2000rt* son marcas comerciales de Abbott Laboratories.

Celera and its Spirit design son marcas comerciales registradas de Celera Corporation o sus filiales de EE.UU. y/u otros países.

Armored RNA es una marca comercial registrada de Ambion.

MGB es una marca comercial de Epoch Biosciences ProClin es una marca comercial registrada de Rohm and Haas.

StrataCooler es una marca comercial registrada de Agilent Technologies.

FAM, ROX y NED son marcas comerciales de Life Technologies Corporation o sus filiales de EE.UU. y/u otros países.

Dr. Jorge Marun
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

Dr. Miguel Liguori
Apostado
Abbott Laboratories Argentina S.A.

ABBOTT



LABORATORIES ARGENTINA S.A.

5855



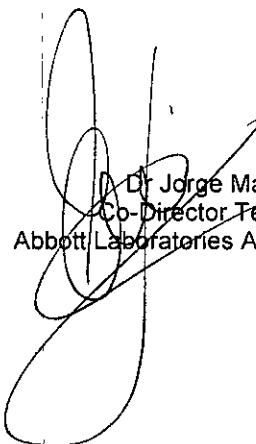
VIC es una marca comercial registrada de Life Technologies Corporation o sus filiales de EE.UU. y/u otros países.

Cy5 es una marca comercial registrada de GE Healthcare.

Abbott Molecular Inc. es el fabricante legal de:

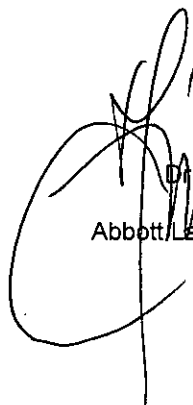
Abbott RealTime HCV Genotype II Amplification Reagent Kit (equipo de reactivos de amplificación) (no de ref.: 8K24-90) y Abbott RealTime HCV Genotype II Control Kit (equipo de controles) (no de ref.: 8K24-80).

www.abbottmolecular.com

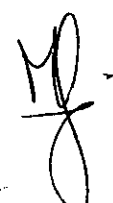
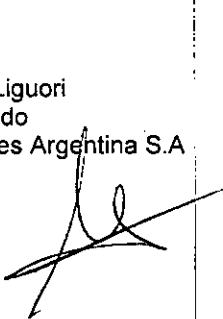


Dr. Jorge Marun
Co-Director Técnico
Abbott Laboratories Argentina S.A.

48



Dr. Miguel Liguori
Apoderado
Abbott Laboratories Argentina S.A.





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

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

Expediente nº:1-47-4610/13-0

Se autoriza a la firma ABBOTT LABORATORIES ARGENTINA S.A a importar y comercializar el Producto para Diagnóstico de uso "in vitro" denominado ABBOTT RealTime HCV Genotype II AMPLIFICATION REAGENT KIT / ENSAYO DE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA PREVIA RETROTRANSCRIPCIÓN (RT-PCR) PARA LA DETERMINACIÓN DE LOS GENOTIPOS DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C (VHC) EN SUERO Y PLASMA DE INDIVIDUOS INFECTADOS POR EL VHC, en ENVASES POR 24 DETERMINACIONES, CONTENIENDO: CONTROL INTERNO (2 viales x 1,2 ml), PACK DE AMPLIFICACION A (HCV Genotype II oligonucleotide Reagent A: 1 vial x 0,9 ml, Thermostable rTth Polimerase Enzyme: 1 vial x 0,141 ml y Activation reagent: 1 vial x 0,400 ml), PACK DE AMPLIFICACION B (HCV Genotype II oligonucleotide Reagent B: 1 vial x 0,9 ml, Thermostable rTth Polimerase Enzyme: 1 vial x 0,141 ml y Activation reagent: 1 vial x 0,400 ml) Y PACK DE AMPLIFICACION C (HCV Genotype II oligonucleotide Reagent C: 1 vial x 0,9 ml, Thermostable rTth Polimerase Enzyme: 1 vial x 0,141 ml y Activation reagent: 1 vial x 0,400 ml). Se le asigna la categoría: Venta a laboratorios de Análisis clínicos por hallarse comprendido en las condiciones establecidas en la Ley 16.463, y Resolución M.S. y A.S. Nº 145/98. Lugar de elaboración: ABBOTT MOLECULAR Inc. 1300 East Touhy Avenue. Des Plaines IL 60018. (USA). Periodo de vida útil: 19 (DIECINUEVE) meses desde la fecha de

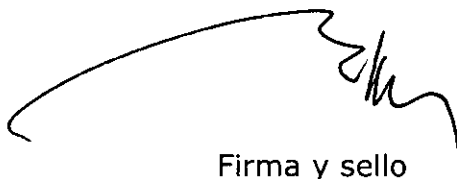
elaboración conservado a ≤ 10 °C .En las etiquetas de los envases, anuncios y Manual de instrucciones deberá constar PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO DE USO "IN VITRO" USO PROFESIONAL EXCLUSIVO AUTORIZADO POR LA ADMINISTRACION NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MEDICA.

Certificado nº: **008423**

ADMINISTRACION NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA.

Buenos Aires,

31 MAYO 2016



Firma y sello

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

