

- **Función del instrumento:** se analizan las funciones de control de fluorescencia del Pima CD4 test cartridge para determinar la funcionalidad del Pima Analyser. Si el control de fluorescencia está fuera de los límites establecidos durante la fabricación, el analizador muestra un mensaje de error.

Durante el análisis se realizan varias comprobaciones adicionales. Si no se supera cualquiera de las comprobaciones, el Pima Analyser mostrará un mensaje de error. Consulte la Guía del usuario del Pima Analyser si desea información sobre los mensajes de error.

Limitaciones

1. Los resultados del Pima CD4 test deben evaluarse en el contexto de todos los datos clínicos y analíticos disponibles. En los casos en que los resultados del laboratorio no coincidan con la evaluación clínica, deberán realizarse pruebas adicionales.
2. El Pima CD4 test se ha evaluado con sangre completa capilar y sangre completa venosa usando EDTA como anticoagulante. No se han evaluado el suero, plasma y sangre completa obtenidos usando otros anticoagulantes, por lo que no deben utilizarse.
3. Los recuentos absolutos de células T cooperadoras pueden diferir entre laboratorios que usen equipos de diferentes fabricantes.

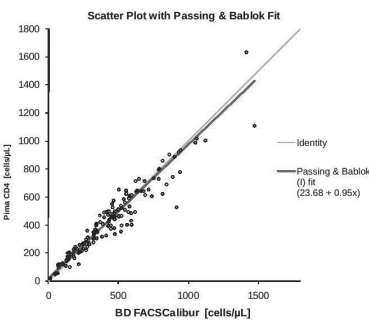
Características de rendimiento

Las características de funcionamiento del Pima CD4 test se establecieron mediante el análisis en Clondiag GmbH en Jena, Alemania y en centros clínicos externos en África y Alemania.

Exactitud

La exactitud del Pima CD4 test para los recuentos absolutos de células T cooperadoras se valoró mediante comparación con el sistema BD FACSCalibur como método de referencia. Se recogieron muestras de sangre completa venosa de 149 adultos positivos para VIH que acudieron a centros de atención sanitaria en Uganda y se

analizaron por duplicado usando Pima CD4 y el método de referencia (una única medición). Se realizó un análisis de regresión de Passing-Bablok de la primera medición del recuento de células con Pima CD4 frente a la medición del recuento de células con BD FACSCalibur. Los resultados se ilustran en la siguiente gráfica. El intervalo total de todas las muestras analizadas era de 12 a 1.472 células/μL para BD FACSCalibur y 17 a 1.631 para Pima CD4. La pendiente (95% IC) fue de 0,95 (0,91 a 0,99) con una intersección (95% IC) de 24 (8,5 a 37). El coeficiente de correlación de Pearson (95% IC) entre las dos medidas fue de 0,96 (0,94 a 0,97).



También se realizó en los datos el análisis de diferencias de Bland-Altman (Pima CD4 – BD FACSCalibur). La desviación media (95% IC) de las 149 muestras fue de -10 (-22 a 3) células/μL.

Acuerdo clínico

Se valoró el acuerdo clínico entre los métodos acerca del valor discriminatorio del diagnóstico realizando un recuento con una tabla de contingencias bilateral. En las siguientes tablas se ilustran los resultados de los dos valores discriminatorios del diagnóstico, 200 células/μL y 350 células/μL, respectivamente. Se evaluó la disconformidad entre los métodos relativa a cada valor discriminatorio de diagnóstico para detectar

el sesgo. Para ello, se empleó la prueba de McNemar y el sesgo resultante era insignificante.

Acuerdo clínico acerca de valor discriminatorio > 200			
	Valor	95 % LCI	95 % UCI
Acuerdo	0,953	0,906	0,981
	Pima negativo	Pima positivo	
BD negativo	25	5	
BD positivo	2	117	
Prueba bilateral de McNemar (2 de 7):			
Valor p	0,453		
Acuerdo clínico acerca de valor discriminatorio > 350			
	Valor	95 % LCI	95 % UCI
Acuerdo	0,940	0,888	0,972
	Pima negativo	Pima positivo	
BD negativo	57	6	
BD positivo	3	83	
Prueba bilateral de McNemar (3 de 9):			
Valor p	0,508		

Análisis de la precisión en muestras clínicas

La desviación estándar de los métodos y el %CV de las medidas de Pima CD4 se calcularon en base a las medidas duplicadas obtenidas en las 149 muestras y también para los subconjuntos de muestras de los intervalos de recuento de muestras de 0 a 200, 0 a 350 y >350, como se indica en la siguiente tabla. MEDIA es la media de todas las medidas duplicadas de cada intervalo; DE es la media cuadrática de las desviaciones estándar de las medidas duplicadas de cada intervalo (junto con su 95% IC).

Intervalo (células/μL)	N	MEDIA (células/μL)	DE (células/μL)	95 % LCI	95 % UCI	%CV
0–200	29	119	20	16	27	16,6
0–350	59	198	23	19	28	11,6
>350	90	580	41	35	47	7,0

Sangre completa capilar

Se ha demostrado que el rendimiento de Pima CD4 con muestras de sangre completa capilar es comparable al de la sangre venosa. Se recogieron muestras de 49 individuos adultos con VIH positivo que acudieron a 2 centros sanitarios de Alemania. También se empleó la sangre venosa de estos individuos para realizar una prueba de referencia con BD FACSCalibur. El intervalo total de todas las muestras analizadas era de 160 a 1.181 células/μL para BD FACSCalibur y 167 a 1.011 para Pima CD4. En comparación con BD FACSCalibur, el análisis de regresión indicó una pendiente (95% IC) de 0,85 (de 0,76 a 0,94) con una intersección (95% IC) de 46,42 (de -5,92 a 98,76). El coeficiente de correlación de Pearson (95% IC) entre las dos medidas fue de 0,94 (de 0,89 a 0,97).

Reproducibilidad entre lotes

Se evaluaron 10 porciones de 2 muestras de sangre completa con un valor discriminatorio superior e inferior a 350 células/μL mediante 3 lotes de cartuchos de Pima CD4 diferentes. La reproducibilidad entre lotes se muestra en la siguiente tabla:

Muestra	Media (células/μL)	%CV medio
1	267	9,54
2	505	7,05

Reacción cruzada

El anticuerpo CD4 reacciona con monocitos, así como con linfocitos T colaboradores/inductores.^{5,6} El anticuerpo CD3 reacciona con todos los linfocitos T maduros.^{7,8}

Linealidad

La linealidad se valoró comprobando las diluciones en serie de 5 especímenes, entre los que se incluía la gama clínicamente importante de células T cooperadoras de la sangre entera. Se ha demostrado que el Pima CD4 test es lineal desde 3 a 2.168 células/μL. Todos los datos coinciden con la línea de regresión lineal con un R² mínimo de 0,99. Los datos se muestran en la siguiente tabla:

Muestra	Range (cells/μL)	Slope	R ²
1	3–2.168	1,00	1,000
2	4–1.507	0,99	0,995
3	4–690	1,02	0,996
4	4–402	1,01	0,997
5	9–391	0,98	0,997

Referencias bibliográficas

1. Pattanapanyasat K and Thakar MR, CD4+T cell count as a tool to monitor HIV progression & anti-retroviral therapy. Indian J Med Res 2005; 121 : 539-49.
2. Rachlis AR and Zarowny DP. Guidelines for antiretroviral therapy for HIV infection. Canadian HIV Trials Network Antiretroviral Working Group. CMAJ 1998; 158 : 496-505.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures and Devices for the Collection of Diagnostic Capillary Blood Specimens; Approved Standard-6th Edition H04-A6 Vol.28 No 25.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard-6th Edition H03-A6 Vol.27 No 26.
5. HCDM (former HLDA VIII) Meeting May (2006), Quebec, Canada; WS Code M241.
6. Millan J, Cerny J, Horejsi V, Alonso MA (1999). CD4 segregates into specific detergent-resistant T-cell membrane microdomains. Tissue Antigens. Jan; 53(1) : 33-40.2.
7. Knapp, W., B. Dorken, et al. Eds. (1989), Leucocyte Typing IV: White Cell Differentiation Antigens Oxford University Press. New York.
8. Mc Michael, A.J., P.C.L. Beverly, et al. eds. (1987). Leucocyte Typing III: White Cell Differentiation Antigens. Oxford University Press. New York.

Índice de símbolos



Marcado CE



Dispositivo médico para diagnóstico in vitro



Consultar instrucciones de uso



Número de catálogo



Número de lote



Fecha de caducidad



Fabricante



Advertencia



No reutilizar



Contenido suficiente para <n> pruebas



Límite de temperatura: de 2 a 30



Mantener seco

Advertencia: los Pima CD4 test cartridges contienen pequeñas cantidades de preparaciones de células sanguíneas humanas. Se han comprobado estas preparaciones de células y se ha demostrado que no son reactivas para: Anti VHC, Anti VIH 1 y 2, HBsAg, Anti-HBc (IgG, IgM), sífilis, AK irregular, VHC- y VIH PCR. Puede seguir existiendo un mínimo riesgo de infección.

© 2010 Alere. Reservados todos los derechos.

Alere™ y Pima™ son marcas registradas del grupo de empresas Alere.



Pima™ CD4 Guía del cartucho

Español

Si desea asistencia técnica, póngase en contacto con el distribuidor local o llame al número correspondiente a su región:

Europa: +44 161 483 9032

EMEproductsupport@alere.com

África: +27 21 5315 999

Asia-Pacífico: +61 7 3363 7166

Alere Technologies GmbH Löbstedter Str. 103–105 D-07749 Jena, Alemania www.pimatest.com

Uso previsto

Pima CD4 es un análisis inmunológico de hematología basado en imágenes diseñado para la medición cuantitativa rápida in vitro de células CD3+/CD4+ (células T cooperadoras) en sangre completa capilar o venosa. Pima CD4 determina el recuento absoluto de células CD3+/CD4+ y está diseñado para su uso en el control continuo del recuento absoluto de linfocitos CD4 en pacientes con diagnóstico documentado de una inmunodeficiencia. El Pima CD4 test está pensado para el uso diagnóstico in vitro.

Introducción

La concentración de células T cooperadoras es un indicador del estado inmunológico del paciente; en pacientes inmunodeficientes disminuye el recuento absoluto de células T cooperadoras. La enumeración de los recuentos absolutos de células T cooperadoras es una parte esencial de la estadificación inicial del estado inmunológico, del control del curso de la inmunodeficiencia en el tiempo y de la respuesta al tratamiento.^{1,2}

Principio del análisis

El Pima CD4 test consta de un Pima CD4 test cartridge y el Pima Analyser y permite la determinación de los recuentos absolutos de células T cooperadoras en sangre completa. El Pima CD4 test cartridge desechable está equipado con lo necesario para tomar aproximadamente 25 µL de muestra y contiene reactivos secos necesarios para realizar el análisis. El Pima CD4 test se realiza dentro del Pima CD4 test cartridge y ninguna parte del Pima Analyser entra en contacto con la muestra en ningún momento durante el proceso de análisis.

Esto minimiza el riesgo de contaminación del analizador y transferencia de la muestra entre mediciones. Tras la inserción del Pima CD4 test cartridge dentro del analizador, un movimiento peristáltico transporta primero la muestra dentro del compartimento de incubación donde la muestra interacciona con anticuerpos específicos marcados con dos colorantes fluorescentes diferentes que emiten luz a dos longitudes de onda distintas

(colorante 1 y colorante 2). Uno de los anticuerpos es un anticuerpo monoclonal anti-CD3 humano conjugado con el colorante 1.

El segundo anticuerpo es un anticuerpo monoclonal anti-CD4 humano conjugado con el colorante 2. Pasado un tiempo de incubación definido, la muestra teñida se transfiere al canal de detección del cartucho. El Pima Analyser está equipado con un sistema óptico de adquisición de imágenes fluorescentes multicolor en miniatura. Una cámara incorporada detecta las señales fluorescentes y las analiza usando los algoritmos patentados del software del ordenador incorporado. Las células T cooperadoras expresan ambos antígenos de superficie, CD3 y CD4, y por tanto emiten luz a longitudes de onda específicas de ambos conjugados anticuerpo-colorante. Esto permite la diferenciación específica de células T cooperadoras con respecto a otros tipos de células de la sangre portadoras solo de uno de los dos antígenos de superficie. El Pima Analyser muestra los resultados en células/µL. Los resultados se almacenan también en un archivo del analizador y se asignan a un ID de muestra que el operador ha introducido en el Pima Analyser y a la fecha y hora en la que se realizó el análisis. El operador puede recuperar y descargar los datos en cualquier momento después del análisis. Se puede conectar una Pima Printer externa a través de un puerto USB del Pima Analyser para imprimir los resultados del análisis.

Contenido y conservación del envase

Materiales suministrados

Cada caja Pima CD4 contiene:

- 100 cartuchos de análisis en bolsas individuales
- 1 prospecto

Conservación

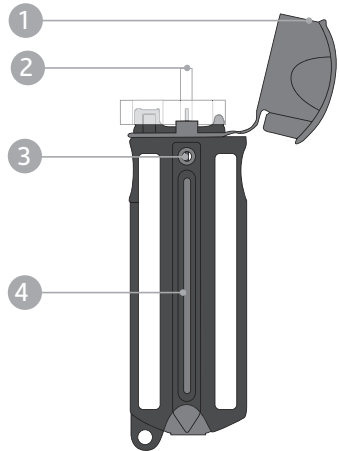
Conservar entre 2 y 30 °C

Materiales necesarios no suministrados

- Pima Analyser
- pipeta volumétrica o de transferencia (solo para muestras de sangre completa venosa)
- lancetas estériles* (para muestras de sangre capilar)
**recomendado: Safety-Lancet Super, Sarstedt, Alemania. Consulte la página www.pimatest.com para obtener información sobre pedidos. Si se utilizan otras lancetas consulte las instrucciones específicas del fabricante.*
- torundas de alcohol
- torundas secas

Pima CD4 Test Cartridge

El Pima CD4 test cartridge consta de una base sólida del cartucho de plástico negro, una tapa de plástico naranja **1**, un Sample Collector para aplicar la muestra de sangre **2**, una ventana de control para comprobar que hay suficiente volumen de muestra **3**, un canal de detección con una cubierta transparente **4**, un tubo de silicona en la parte posterior para permitir el movimiento del líquido en el cartucho y una cubierta posterior naranja (estos dos últimos no se muestran en la imagen).

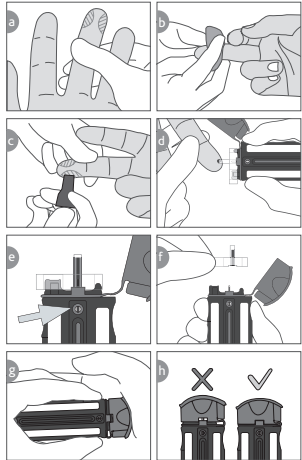


Precauciones

- ! **NO** utilice guantes con talco ni las manos desnudas.
- ! Deje que el cartucho se ponga a temperatura ambiente antes de abrir la bolsa de aluminio.
- ! **NO** abra la bolsa de aluminio hasta que esté listo para el análisis.
- ! Saque cuidadosamente el cartucho de la bolsa de aluminio sin tocar la cubierta del canal de detección.
- ! **NO** utilice cartuchos que se hayan humedecido.
- ! **NO** utilice los cartuchos si la bolsa de aluminio está dañada.
- ! Deseche adecuadamente todos los residuos contaminados según la regulación nacional, regional o local o incinérelos.
- ! **NO** utilice los cartuchos pasada la fecha de caducidad impresa en la etiqueta de la bolsa.
- ! **NO** retire el Sample Collector hasta que se llene la ventana de control con la sangre.
- ! **NO** intente separar la tapa de plástico naranja de la base del cartucho.
- ! **NO** cierre la tapa de plástico naranja hasta que el cartucho esté cargado con la sangre.
- ! **NO** toque la cubierta transparente del canal de detección. Si las cubiertas del canal de detección se dañan, pueden causar un error en el instrumento.
- ! **NO** toque ni intente estirar el tubo de silicona.
- ! Un tubo dañado puede inducir error en el instrumento.
- ! **NO** intente retirar la cubierta posterior naranja del cartucho.
- ! **NO** abra la bolsa de desecante incluida en la bolsa de aluminio.

Sig alas instrucciones de prevencion y control de infecciones (infection control guidlines) para manejar muestras de origen humano.

Nota: La presencia de residuo blanco dentro del capilar con EDTA **NO** significa que el cartucho está defectuoso. Esto es consecuencia del proceso normal de fabricación. El residuo se disolverá cuando entre en contacto con la muestra de sangre.



Obtención de la muestra

Obtención de la muestra de sangre mediante punción digital ³

(consulte la ilustración del flujo de trabajo)

1. Prepare al paciente para la obtención de la muestra por punción digital (véase la ilustración a). Los mejores sitios para las punciones digitales son los dedos 3° y 4° de la mano no dominante. No utilice la punta del dedo ni el centro de la yema. Evite el lateral del dedo donde hay menos tejido blando, donde se localizan vasos y nervios y donde el hueso está cerca de la superficie. El 2o dedo (índice) tiende a tener la piel callosa y más gruesa. El quinto dedo tiende a tener menos tejido blando recubriendo el hueso. Evite la punción en un dedo frío o cianótico, hinchado, con cicatrices o con exantema. Evite los dedos con anillos.
2. Caliente el dedo si es necesario. El paciente debe mantener la mano hacia abajo para aumentar el flujo de sangre a los dedos.
3. Limpie la punta del dedo seleccionado apropiadamente con una torunda de alcohol y deje que el alcohol se seque al aire (véase la ilustración b).
4. Saque un Pima CD4 test cartridge de su bolsa de aluminio y abra la tapa de plástico naranja hasta exponer completamente el Sample Collector. Conserve la bolsa de aluminio en caso de que el analizador no pueda leer el código de barras del cartucho.
5. Utilice una lanceta estéril para realizar la punción de la piel, pero que no sea justo en el centro de la yema del dedo (véase la ilustración c). La punción debe realizarse perpendicular a los pliegues de la huella digital, de modo que la gota de sangre no discurra por los pliegues. Es importante presionar firmemente con la lanceta sobre el dedo y mantener contacto mientras se extrae la lanceta. No apriete ni aplique presión fuerte repetitiva (como si estuviera ordeñando) en la zona; esto puede causar hemólisis o la contaminación de la muestra con fluidos o tejido. Si es necesario, puede realizarse un masaje suave del dedo para asegurar un flujo de sangre constante.
6. Limpie las primeras gotas de sangre con una gasa o paño seco. Esto garantiza un flujo de sangre constante que genera gotas suficientemente grandes de sangre. Si es necesario, limpie más gotas de sangre, hasta que la sangre fluya libremente.
7. Deje que la sangre fluya libremente del dedo directamente al Sample Collector (véase la ilustración d) sosteniendo el cartucho en un ángulo de 45 grados para cargar la muestra. Espere hasta que el capilar colector esté completamente lleno de sangre. Luego retire el cartucho del dedo y aplique presión directa en el lado pinchado con una torunda seca limpia.
8. Mantenga el cartucho en posición vertical y observe la ventana de control para asegurarse de que se ha cargado suficiente muestra (véase la ilustración e). Se ha aplicado suficiente sangre cuando el capilar visible en la ventana de sangre está lleno de sangre.
9. Apriete la pinza del Sample Collector entre los dedos pulgar e índice y retire el colector del cartucho con un movimiento continuo hacia

arriba (véase la ilustración f). Deséchelo como residuo biológico peligroso.

10. Cierre completamente la tapa de plástico naranja (véanse las ilustraciones g y h).
11. Se recomienda insertar inmediatamente (pero no más de 5 minutos) un Pima CD4 test cartridge en el Pima Analyser después de cargar una muestra de sangre.

Obtención de sangre completa mediante venopunción ⁴

1. Obtenga la sangre de forma aséptica mediante venopunción en un tubo de extracción de sangre con EDTA (ácido etilendiaminotetraacético).
2. Invierta el tubo de 8 a 10 veces.
3. Conserve a temperatura ambiente (entre 18 y 28°C). La muestra debe analizarse en el plazo de 36 horas desde su extracción.
4. Antes de tomar la muestra para el análisis, invierta el tubo de 10 a 15 veces para asegurar el mezclado de la muestra.
5. Utilice una pipeta volumétrica o de transferencia para aplicar la muestra de sangre en el Sample Collector del Pima CD4 test cartridge.
6. Continúe según lo descrito desde el punto 8 de la sección anterior.

Procedimiento

1. Añada la muestra al Pima CD4 test cartridge (véanse los detalles en la sección Obtención de la muestra).
2. Seleccione «Run Test» en el Pima Analyser.
3. Inserte el Pima CD4 test cartridge en el Pima Analyser en la dirección indicada por la flecha del cartucho. Siga las instrucciones de la pantalla o consulte la Guía del usuario del Pima Analyser para ver los detalles sobre cómo proseguir con el análisis.
4. Retire el Pima CD4 test cartridge cuando lo solicite el Pima Analyser y lea los resultados.

Resultados

El Pima Analyser calcula automáticamente los resultados. El recuento absoluto de células T cooperadoras se muestra en la primera de las cuatro ventanas de resultados del analizador. El operador tiene la opción de imprimir un resultado a través de una Pima Printer externa. Si desea información adicional, consulte la Guía del usuario del Pima Analyser.

Control de calidad y aceptación de los resultados

Funciones de control de calidad incorporadas

El Pima CD4 test cartridge incorpora funciones de control para comprobar la funcionalidad del analizador y de los reactivos. Las siguientes comprobaciones se realizan automáticamente cuando se inserta el cartucho en el Pima Analyser:

- **Fecha de caducidad:** el código de barras del Pima CD4 test cartridge contiene información sobre la fecha de caducidad, que es comprobada por el Pima Analyser antes del análisis. Si el cartucho ha caducado, el análisis no se iniciará y será expulsado. Si el Pima Analyser no puede leer el código de barras, el operador puede introducir manualmente el código numérico. Este código está impreso en la bolsa de aluminio del cartucho bajo el código de barras lineal.
- **Volumen de muestra:** el Pima Analyser comprueba si se ha cargado muestra suficiente en el Pima CD4 test cartridge. Si no se ha cargado muestra suficiente en el cartucho, el análisis no se iniciará y aparecerá un mensaje de error.
- **Validación de reactivos:** la estabilidad de los reactivos del análisis se valida para cada uno Pima CD4 test cartridge utilizando un control de reactivos incorporado. Si los resultados de la validación de reactivos están fuera de los límites establecidos durante la fabricación, el analizador muestra un mensaje de error.