Limitações

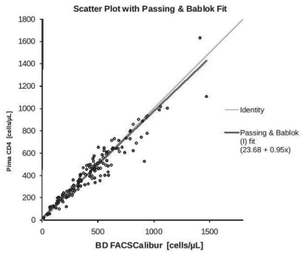
1. Os resultados de um Pima CD4 test devem ser avaliados no contexto de todos os dados clínicos e laboratoriais disponíveis. No caso dos resultados laboratoriais não concordarem com a avaliação clínica, devem ser efetuados testes adicionais adequados.
2. O Pima CD4 test tem sido avaliado com sangue total capilar e sangue total venoso utilizando EDTA como anticoagulante. Soro, plasma e sangue total obtidos com a ajuda de outros anticoagulantes não foram avaliados e não devem ser utilizados.
3. As contagens absolutas de células T-helper podem variar de laboratório para laboratório devido à utilização de equipamentos de diferentes fabricantes.

Características de desempenho

As características de desempenho do Pima CD4 test foram determinadas através de testes na Clondiag GmbH (agora Alere Technologies GmbH) em Jena, Alemanha, e em centros clínicos externos situados na África e na Alemanha.

Exatidão

A exatidão do Pima CD4 test para as contagens absolutas das células T-helper, foi avaliada por comparação com o sistema BD FACSCalibur, como método de referência. As amostras de sangue total venoso de 149 adultos seropositivos, que recorreram a instituições de saúde no Uganda, foram colhidas e analisadas em duplicado utilizando o Pima CD4 e o método de referência (medição única). A análise de regressão de Passing-Bablok foi realizada na primeira medição Pima CD4 de contagem das células versus a medição BD FACSCalibur de contagem das células e os resultados são ilustrados no gráfico abaixo. O intervalo total das amostras analisadas foi de 12 a 1472 células/µL para BD FACSCalibur e de 17 a 1631 para Pima CD4. O declive (IC 95%) foi de 0,95 (0,91 a 0,99) com uma interseção (IC 95%) de 24 (8,5 a 37). O coeficiente de correlação de Pearson (IC 95%) entre as duas medições foi de 0,96 (0,94 a 0,97).



A análise da diferença Bland-Altman (Pima CD4 – BD FACSCalibur) foi também realizada. O enviesamento médio (IC 95%) em todas as 149 amostras foi de -10 (-22 a 3) células/µL.

Concordância clínica

A concordância clínica entre os métodos foi avaliada em termos do valor limite de diagnóstico por cálculo de uma tabela de contingência de dois por dois. Os resultados são ilustrados nas tabelas abaixo para dois valores limites, 200 células/µL e 350 células/µL, respetivamente.
A discordância entre os métodos em cada valor limite de diagnóstico foi avaliada em termos de enviesamento utilizando um teste de McNemar e demonstrou-se que o enviesamento é insignificante.

Concordância clínica do valor limite > 200			
	Valor	95 % LCI	95 % UCI
Concordância	0.953	0.906	0.981
	Pima Negativo	Pima Positivo	
BD Negativo	25	5	
BD Positivo	2	117	
Teste bilateral de McNemar (2 em 7):			
Valor p	0.453		
Concordância clínica do valor limite > 350			
	Valor	95 % LCI	95 % UCI
Concordância	0.940	0.888	0.972
	Pima Negativo	Pima Positivo	
BD Negativo	57	6	
BD Positivo	3	83	
Teste bilateral de McNemar (3 em 9):			
Valor p	0.508		

Análise de precisão em amostras clínicas

O desvio-padrão e o %CV intra-método das medições do Pima CD4 foram calculados com base em medições em duplicado para todas as 149 amostras e para subconjuntos de amostras nos intervalos de contagem de células de 0–200, 0–350 e >350, conforme ilustrado na tabela abaixo. MÉDIA é a média de todas as medições em duplicado dentro de cada intervalo e o DP é a raiz média quadrática dos desvios-padrão das medições em duplicado dentro de cada intervalo (juntamente com o respetivo IC 95%).

Intervalo (células/µL)	N	MÉDIA (células/µL)	DP (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

Sangue total capilar

Demonstrou-se que o desempenho do Pima CD4 com amostras de sangue total capilar é comparável com o sangue total venoso. Foram colhidas amostras de 49 adultos seropositivos de 2 instituições de saúde na Alemanha. O sangue venoso dos mesmos indivíduos foi utilizado para o teste de referência com o BD FACSCalibur. O intervalo total das amostras analisadas foi de 160 a 1181 células/µL para BD FACSCalibur e de 167 a 1011 para Pima CD4. Em comparação com BD FACSCalibur, a análise de regressão mostrou um declive (IC 95%) de 0,85 (0,76 a 0.94) com uma interseção (IC 95%) de 46,42 (-5,92 a 98,76). O coeficiente de correlação de Pearson (IC 95%) entre as duas medições foi de 0,94 (0,89 a 0,97). O %CV das medições Pima CD4 para o sangue total capilar foi de 10,3.

Reproducibilidade de lote para lote

Avaliaram-se dez alíquotas de 2 amostras de sangue total acima e abaixo do valor limite de 350 células/µL utilizando 3 lotes diferentes do Pima CD4 test cartridge. A reproducibilidade de lote para lote é mostrada na tabela abaixo:

Amostra	Média (células/µL)	%CV médio
1	267	9.54
2	505	7.05

Reatividade cruzada

O anticorpo CD4 reage tanto com monócitos como com linfócitos T helper/indutores. [5,6]
O anticorpo CD3 reage com todos os linfócitos T maduros. [7,8]

Linearidade

A linearidade foi avaliada através do teste de diluições em série de 5 amostras, cobrindo o intervalo clinicamente relevante das células T-helper no sangue total. Demonstrou-se que o Pima CD4 é linear de 3 a 2168 células/µL.
Os dados ajustam-se todos à linha de regressão com um R2 mínimo de 0,99.
Os dados estão resumidos na seguinte tabela:

Amostra	Média (células/µL)	Declive	R^2
1	3–2168	1.00	1.000
2	4–1507	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

Referências 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

- Marca CE
- IVD — Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
- Consultar as instruções de utilização
- REF — Número de catálogo
- LOT — Número de lote
- Prazo de validade
- Fabricante
- Aviso
- Não reutilizar
- Σ n — Contém suficiente para <n> testes
- 2°C – 30°C — Limite de temperatura
- Manter seco

Aviso: Os Pima CD4 test cartridges contêm quantidades pequenas de preparados de células sanguíneas humanas. Estes preparados celulares foram testadas e não são reativos para: anti-VHC, anti-VIH1 e 2, HBsAg, anti-HBc (IgG, IgM), sífilis, AK irregular, PCR do VHC eVIH. Pode permanecer um risco residual mas pequeno de infeção.

Impresso em papel 100% reciclado.

© 2014 Alere. Todos os direitos reservados.
Alere™ e Pima™ são marcas comerciais do grupo de empresas Alere.

Alere™

Pima™ CD4 - Manual do Cartucho

Português

Para obter Assistência Técnica, contacte o seu distribuidor local ou ligue para o respetivo número da sua região:

Europa: +44 161 483 9032 — EMEproductsupport@alere.com
África: +27 21 5315 999 — Afrisupport@alere.com
Ásia-Pacífico: +61 7 3363 7166 — au.techsupport@alere.com
Índia: +91 11 45089400 — technical.service@alere.com
América Latina: +57 2 6618916, +57 2 6618797 — la.techsupport@alere.com
Rússia e CEI: +972 8 9429 683 — Tsupport@orgenics.co.il

Alere Technologies GmbH Loebstedter Str. 103–105 D-07749 Jena, Alemanha www.AlereHIV.com

Utilização prevista

O Pima CD4 é um teste imunológico de hematologia, automatizado e baseado em imagens destinado a medição rápida quantitativa in vitro de células T CD3+/CD4+ (células T-helper) no sangue total capilar ou venoso. O Pima CD4 determina a contagem absoluta de células CD3+/CD4+ e destina-se a ser utilizado para a monitorização contínua das contagens absolutas de linfócitos CD4 em doentes com diagnóstico documentado de imunodeficiência. O Pima CD4 test destina-se a ser utilizado como diagnóstico in vitro.

Um dos anticorpos é um anticorpo monoclonal anti-CD3 humano conjugado com o corante 1. O segundo anticorpo é um anticorpo monoclonal humano anti-CD4 humano conjugado com o corante 2.
Após um tempo de incubação definido, a amostra marcada com corante é transferida para o canal de deteção de cartucho.
O Pima Analyser está equipado com um sistema óticos de imagens fluorescentes multicilor em miniatura. Os sinais de fluorescência são detetados por uma câmara interna e analisados com software de algoritmos patenteados e incorporados no computador. As células T-helper carregam os antigénios de superfície tanto CD3 como CD4 e, em consequência, emitem luz a comprimentos de onda específicos para ambos os conjugados anticorpo-corante, isto permite a diferenciação específica das células T-helper de outros tipos de células sanguíneas que transportam apenas um dos sítios antigénicos de superfície. Os resultados são apresentados pelo Pima Analyser como células/µL. Os resultados são guardados como ficheiros internos e recebem uma ID de amostra que é introduzida no Pima Analyser pelo operador e está/hora de realização do teste. Os dados podem ser recuperados e exportados pelo operador em qualquer momento após o teste.
Para imprimir os resultados dos testes, é possível ligar uma Pima Printer externa através de USB ao Pima Analyser.

Conteúdo e armazenagem

Materiais fornecidos

Cada caixa Pima CD4 contém:

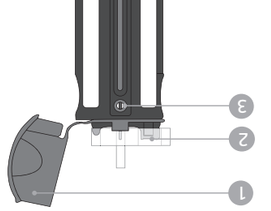
- 25 cartuchos de teste em bolsas individuais (n.º de catálogo 2601000-25) ou 100 cartuchos de teste em bolsas individuais (n.º de catálogo 2601000-100)
- 1 Manual do Cartucho Pima™ CD4

Armazenagem

Armazenar entre 2 e 30 °C.

Pima CD4 test cartridge

O Pima CD4 test cartridge consiste numa base ¹ tampa de plástico laranja (1), uma ¹ um Sample Collector para aplicar a amostra de sangue (2), uma janela de controlo ¹ verificar o volume suficiente da amostra (3), ¹ um canal de deteção com uma tampa ¹ transparente (4), tubo de silicone na parte ¹ de trás que permite o movimento de líquido ¹ no cartucho e uma cobertura traseira laranja ¹ (ambos não são mostrados na imagem).



Materiais necessários mas não fornecidos

- Pima Analyser
- ¹ (apenas para amostras de sangue capilar)
- ¹ (para amostras de sangue capilar) ** recomendadas: Safety-Lancet Super, Sarstedt, Alemanha.*
  No caso de utilização de outras lancetas, consulte as instruções específicas do fabricante legal.
- ¹ algodões embebidos em álcool
- ¹ algodões secos
- ¹ penso

Precauções

¹ **NÃO** utilize luvas com pó talco nem as mãos nuas.
¹ Deixe o cartucho atingir a temperatura ambiente antes de abrir a bolsa de alumínio.
¹ **SO** abra a bolsa de alumínio imediatamente antes do teste.
¹ Retire cuidadosamente o cartucho da bolsa de alumínio sem tocar na tampa do canal de deteção.
¹ **NÃO** utilize cartuchos que tenham ficado húmidos.
¹ **NÃO** utilize cartuchos em caso de danificação da bolsa de alumínio.
¹ **NÃO** utilize os cartuchos depois de expirado o prazo de validade impresso no rótulo da bolsa.
¹ **NÃO** retire o Sample Collector quando a janela de controlo do cartucho não estiver cheia de sangue.
¹ **NÃO** tente separar a tampa de plástico laranja da base do cartucho.
¹ **NÃO** feche a tampa de plástico laranja enquanto o cartucho não estiver cheio com sangue.
¹ **NÃO** toque na tampa do canal de deteção transparente. As lampas danificadas ou canal de deteção podem conduzir a uma mensagem de erro.
¹ **NÃO** toque nem tente esticar o tubo de silicone. Um tubo danificado pode conduzir a uma mensagem de erro.
¹ **NÃO** tente retirar a cobertura traseira laranja do cartucho.
¹ **NÃO** abra a bolsa de dessecante incluída na bolsa de alumínio.
¹ Elimine adequadamente todos os resíduos contaminados de acordo com os regulamentos nacionais, regionais e locais ou incinere.
¹ Para minimizar os erros da identificação da amostra, cada cartucho deve ser marcado com a correspondente ID da amostra na zona fornecida no rótulo da ID do cartucho.

Siga as diretrizes apropriadas de controlo de infeções para o manuseamento de todas as amostras de sangue e elementos associados.

Nota: o resíduo diretrizes visível devido ao caliber EDTA NÃO significa que o cartucho esteja defeituoso. Esta é o resultado de um processo de fabrico normal. O resíduo dissolve-se em contacto com a amostra de sangue.

Coleta da amostra

Coleta de sangue total por punção digital[3]

1. Prepare o doente para a coleta de amostra (consulte a ilustração n.º 4). Não utilize a punção digital. As melhores localizações para punção digital são o 3.º e o 4.º dedos por punção digital. As melhores localizações são o 3.º e o 4.º dedos (indicador) tenda a aperestar ou outro lado da tolha)
2. Aquece o dedo com a ajuda de uma bolsa de água morna para aumentar o fluxo sanguíneo do dedo.
   Evite dedos com anéis.
   Segure o dedo para baixo para aumentar o fluxo de sangue para o dedo.
   Nota: o doente deve sentar-se sempre numa posição mais alta do que a pessoa que realiza a punção digital.
3. Limpe a ponta do dedo escolhido adequadamente com um algodão embebido em álcool e deixe o álcool secar ao ar (consulte a ilustração n.º 7).
4. Retire um Pima CD4 test cartridge da bolsa de alumínio e abra a tampa de plástico laranja para expor totalmente o Sample Collector. Se necessário, ajuste adequadamente o Sample Collector (consulte a fig. na página 3). Guarde a bolsa para o caso de o Analyser não conseguir ler o código de barras do cartucho.
5. Utilize uma lancete estéril para efetuar uma punção cutânea ao lado do centro da almofada do dedo. Para obter uma amostra de sangue representativa, um fluxo de sangue constante é de grande importância (consulte a ilustração n.º 11-15). Quando utilizar uma lancetade automática, é fundamental pressionar a lancete com firmeza do dedo e manter o contato enquanto aplique mais pressão do arterial (segurá-lo) no local; isto pode resultar em hemólise ou contaminação da amostra com tecido ou fluidos. Se necessário, massageie suavemente o dedo para garantir um fluxo de sangue regular.
6. Limpe as primeiras gotas de sangue com um pano ou gaze seco (consulte a ilustração n.º 16-18). Assegure um fluxo do sangue regular que gere gotas suficientemente grandes. Se necessário, limpe uma outra gota, até o sangue fluir livremente.
7. Deixe o sangue fluir livremente do dedo picado diretamente para o Sample Collector, segurando o cartucho a um ângulo de 45 graus para a recolha da amostra (consulte a ilustração n.º 19). Aguarde até o capilar do Sample Collector ficar totalmente cheio com sangue. De seguida, retire o cartucho do dedo e deixe de exercer pressão direta na zona da ferida com a ajuda de um algodão limpo de sangue (consulte a ilustração n.º 8, 20).
8. Segure o cartucho na vertical e observe a janela de controlo para garantir uma recolha suficiente da amostra (consulte a ilustração n.º 21). Sangue suficiente é atingido quando o capilar visível na janela de controlo ficar cheio de sangue.
9. Aperte a pinça do Sample Collector entre o polegar e o indicador e retire o Sample Collector do cartucho num movimento ascendente contínuo (consulte a ilustração n.º 22). Elimine como resíduos biológicos perigosos.
10. Feche totalmente a tampa de plástico laranja (consulte as ilustrações n.º 23-25).
11. Recomenda-se a inserção do Pima CD4 test cartridge no Pima Analyser imediatamente (mas por máximo de 5 minutos) após a recolha de amostra de sangue (consulte a ilustração n.º 26, 27).
12. Aplique um penso no dedo do doente (consulte a ilustração n.º 28).

Coleta de sangue total por venopunção[4]

1. Colha o sangue assepticamente por venopunção num tubo estéril de colheita de sangue tratado com EDTA (ácido etilenodiaminotetra-acético).
2. Inverta o tubo de colheita 8 a 10 vezes.
3. Amazene a temperatura ambiente (18 – 28 °C). A amostra deve ser analisada no espaço de 36 horas após a colheita.
4. Antes de colher a amostra para teste, inverta o tubo de colheita 10 a 15 vezes para garantir a mistura da amostra.
5. Utilize uma pipeta volumétrica ou de transferência para aplicar a amostra de sangue no Sample Collector do Pima CD4 test cartridge.
6. Continue conforme descrito a partir do ponto 8 da seção anterior.

Procedimento do teste

1. Adicione a amostra ao Pima CD4 test cartridge (consulte a seção Colheita de amostra para obter detalhes adicionais).
2. Selecione «Run Test» no Pima Analyser.
3. Insira o Pima CD4 test cartridge no slot no cartucho. Siga as instruções no Pima Analyser na direção indicada pela seta no cartucho para a análise.
4. Retire o Pima CD4 test cartridge quando solicitado pelo Pima Analyser e leia o resultado.

Resultados

O Pima Analyser calcula automaticamente os resultados. A contagem absoluta das células T-helper é apresentada na primeira das quatro janelas de resultados do Analyser. O operador tem da opção de imprimir o resultado através de uma Pima Printer externa.
Para obter informações adicionais, consulte o Manual do Utilizador do Pima Analyser.

Durante a análise, são realizadas várias verificações adicionais. Caso uma verificação não for superada, o Pima Analyser exibe uma mensagem de erro. Consulte o Manual do Utilizador do Pima Analyser para obter detalhes sobre as mensagens de erro.

Controlo de qualidade e aceitação dos resultados

Funções de controlo de qualidade incorporadas

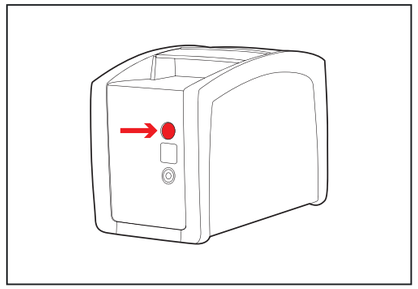
O Pima CD4 test cartridge contém funções de controlo para verificar a funcionalidade do Analyser e do reagente. As seguintes verificações são automáticas depois de o cartucho ser inserido no Pima Analyser:

- **Prazo de validade:** o código de barras linear no Pima CD4 test cartridge tem informações sobre o prazo de validade, verificadas pelo Pima Analyser antes da análise. Se o prazo estiver expirado, a análise não se inicia e o cartucho é rejeitado. Se o Pima Analyser não conseguir ler o código de barras, o operador introduzir manualmente o código numérico. Este código está impresso na bolsa do cartucho abaixo do código de barras.
- **Volume da amostra:** o Pima Analyser verifica se foi coletado amostra suficiente no Pima CD4 test cartridge. No caso de recolha insuficiente de amostra no test cartridge, a análise não se inicia e o Analyser apresenta uma mensagem de erro.
- **Validade do reagente:** a estabilidade dos reagentes é validada para cada Pima CD4 test cartridge individualmente, utilizando um controlo de reagente incorporado.
  Se os resultados de validação do reagente se situarem fora dos limites definidos durante o fabrico, o Analyser exibe uma mensagem de erro.
- **Função de aparelho:** as funções de controlo fluorescentes no Pima CD4 test cartridge são analisadas para definir a funcionalidade do Pima Analyser. Se os resultados do controlo fluorescente estiverem fora dos limites definidos durante o fabrico, o Analyser exibe uma mensagem de erro.

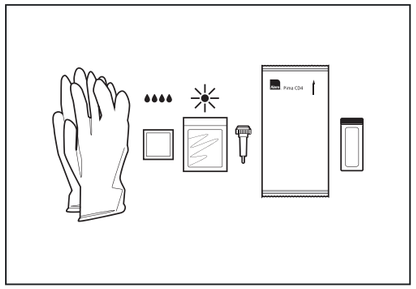
Alere™

Pima™ CD4

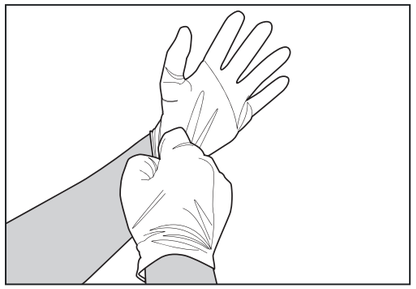
1



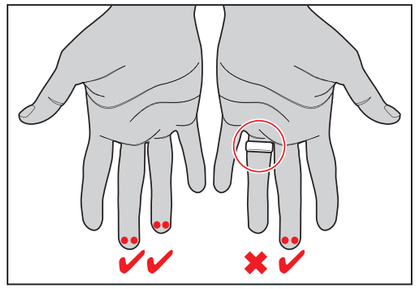
2



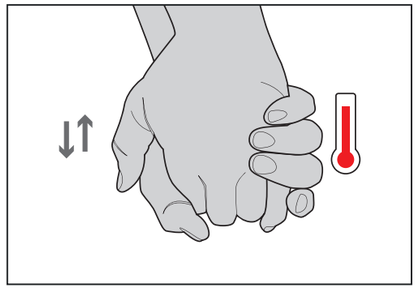
3



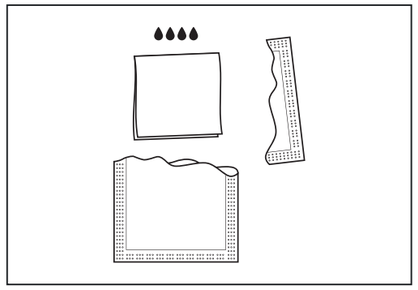
4



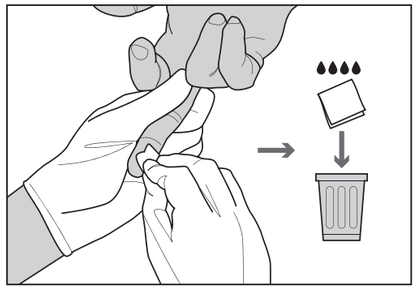
5



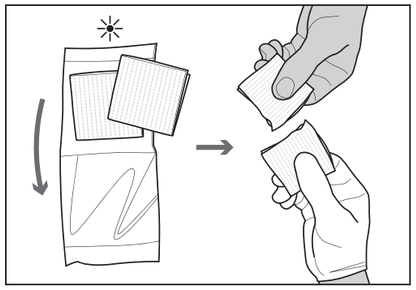
6



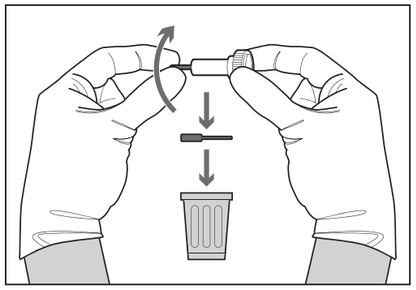
7



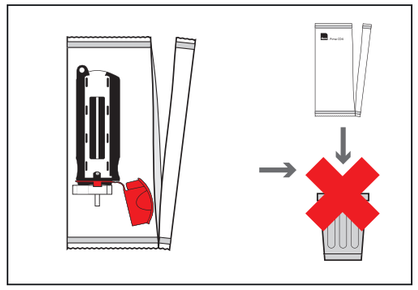
8



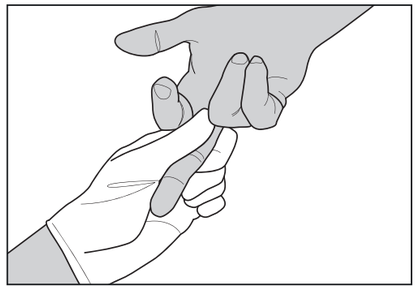
9



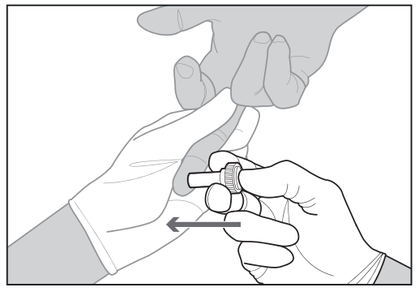
10



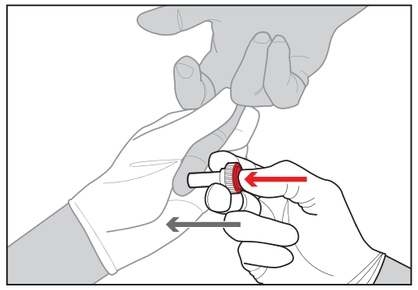
11



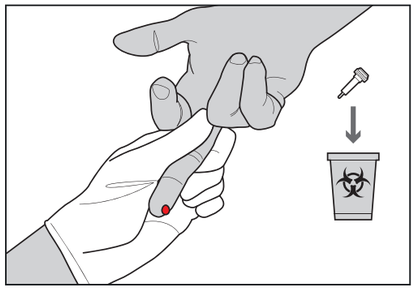
12



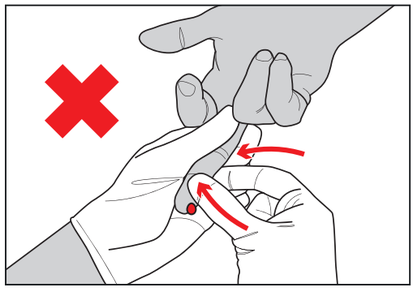
13



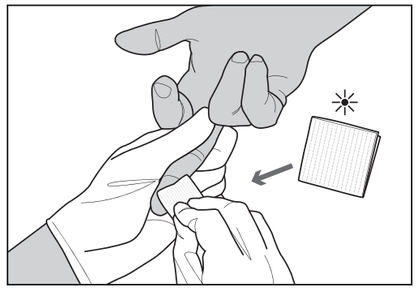
14



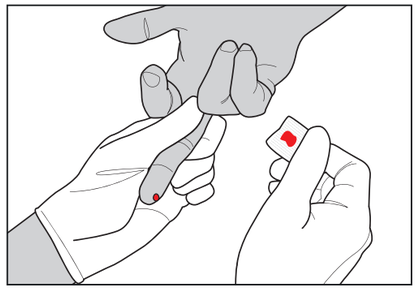
15



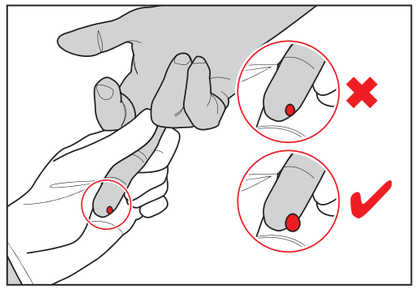
16



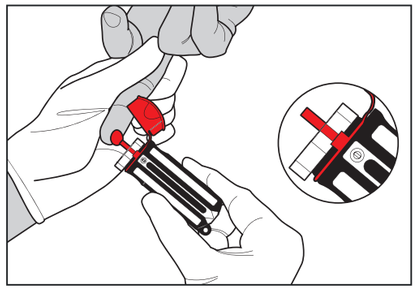
17



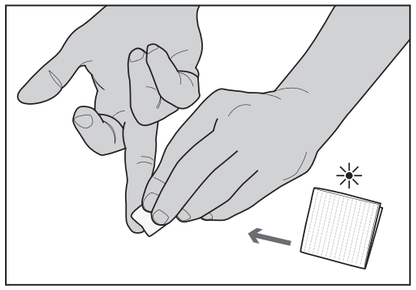
18



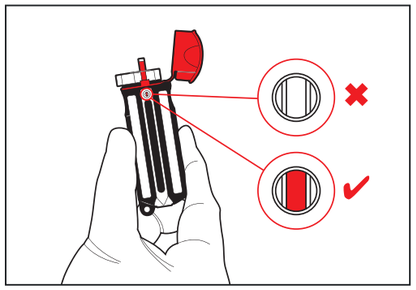
19



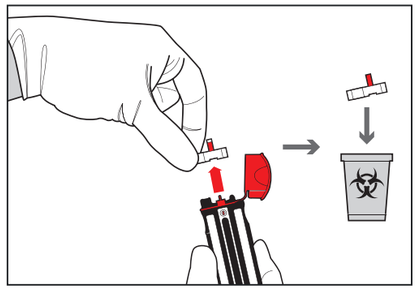
20



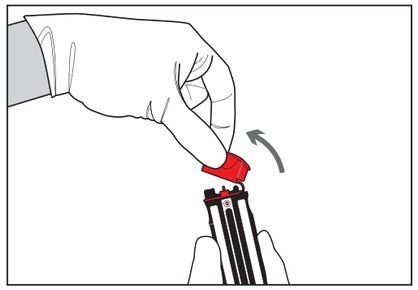
21



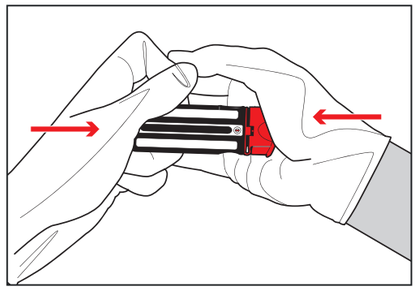
22



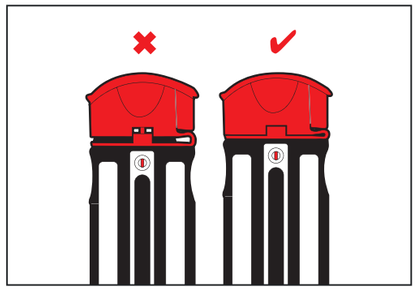
23



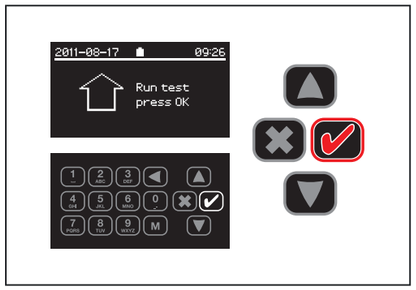
24



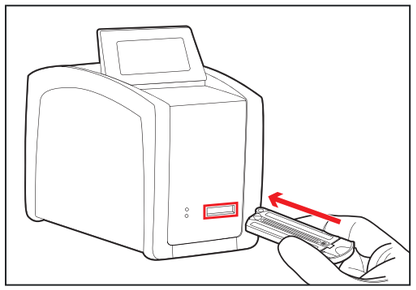
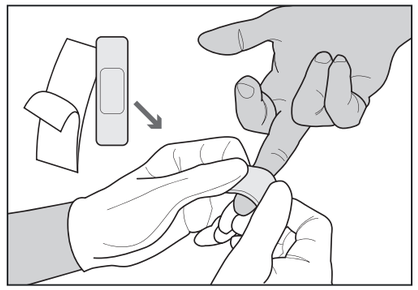
25



26



27



28