Limitaciones

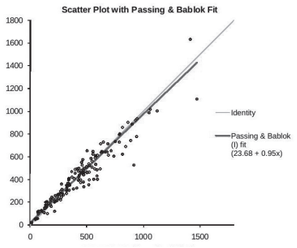
1. Los resultados del Pima CD4 test deben evaluarse en el contexto de todos los datos clínicos y analíticos disponibles. En los casos en que los resultados de laboratorio no coincidan con la evaluación clínica, deberán realizarse pruebas adicionales.
2. El Pima CD4 test ha sido evaluado con sangre completa capilar y sangre completa venosa usando EDTA como anticoagulante. Suero, plasma y sangre completa obtenida usando otros anticoagulantes no han sido evaluados y por lo tanto 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 rendimiento del Pima CD4 test se establecieron mediante análisis realizados en Clondiag GmbH (ahora Alere Technologies 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 evaluó mediante comparación con el sistema FACSCalibur de BD como método de referencia. Se obtuvieron muestras de sangre completa venosa de 149 adultos VIH positivos acudiendo a centros de atención sanitaria en Uganda, y se analizaron por duplicado usando Pima CD4 y el método de referencia (una sola medición). Se realizó un análisis de regresión de Passing-Bablok entre la primera medición del recuento de células con Pima CD4 y la medición del recuento de células con FACSCalibur de BD. Los resultados se ilustran en la siguiente gráfica. El intervalo total de todas las muestras analizadas fue de 12 a 1.472 células/µL para FACSCalibur de BD y de 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 mediciones fue de 0,96 (0,94 a 0,97).



Los datos también se sometieron a un análisis de diferencias de Bland-Altman (Pima CD4 – FACSCalibur de BD).
La desviación media (95% IC) de las 149 muestras fue de -10 (-22 a 3) células/µL.

Concordancia clínica

Se evaluó la concordancia clínica entre los métodos utilizando distintos valores diagnósticos discriminatorios, en base a un análisis de contingencia de dos vías.
En las siguientes tablas se muestran los resultados para dos valores diagnósticos discriminatorios, 200 células/µL y 350 células/µL, respectivamente. Se evaluó la discordancia entre los métodos para cada valor diagnóstico discriminatorio analizando su sesgo. Para ello, se utilizó la prueba de McNemar, cuyo resultado indicó que no habrían diferencias en los sesgos.

Concordancia clínica sobre el valor discriminatorio > 200			
	Valor	95 % LIC	95 % LSC
Concordancia	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		
Concordancia clínica sobre el valor discriminatorio > 350			
	Valor	95 % LIC	95 % LSC
Concordancia	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 precisión en muestras clínicas

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

Intervalo (células/µL)	N	MEDIA (células/µL)	DE (células/µL)	95 % LIC	95 % LSC	%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 obtuvieron muestras de 49 individuos adultos VIH positivos que acudieron a 2 centros sanitarios en Alemania. También se empleó sangre venosa de los mismos individuos para realizar una prueba de referencia con FACSCalibur de BD. El intervalo total de todas las muestras analizadas era de 160 a 1.181 células/µL para FACSCalibur de BD, y 167 a 1.011 para Pima CD4. En comparación con FACSCalibur de BD, el análisis de regresión mostró 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 mediciones fue de 0,94 (de 0,89 a 0,97). El coeficiente de variabilidad (%CV) de mediciones de sangre completa capilar fue de 10,3.

Reproducibilidad entre lotes

Se evaluaron 10 alícuotas de 2 muestras de sangre completa con un valor discriminatorio superior e inferior a 350 células/µL, usando 3 diferentes lotes de cartuchos de Pima CD4.
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

Linealidad se evaluó mediante diluciones en serie de 5 especímenes, entre los que se incluía la gama clínicamente importante de células T cooperadoras de sangre completa. 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 R^2 mínimo de 0,99. Los datos se muestran en la siguiente tabla:

Muestra	Rango (células/µL)	Pendiente	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
- IVD — Producto médico para diagnóstico in vitro
- Consultar instrucciones de uso
- REF — Número de catálogo
- LOT — Número de lote
- Fecha de caducidad
- Fabricante
- Advertencia
- No reutilizar
- Σ n — Contenido suficiente para <n> ensayos
- 2°C 30°C — Límite de temperatura
- Mantener seco

Advertencia: Los Pima CD4 test cartridge contienen pequeñas cantidades de preparaciones de células sanguíneas humanas. Estas preparaciones de células fueron examinadas y se demostró que no son reactivas con: 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. Todos los derechos reservados.
Alere™ y Pima™ son marcas registradas del grupo de empresas Alere.

Alere™

Pima™ CD4 Guía del cartucho

Español

Si desea asistencia técnica, contacte a su 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
Latinoamérica: +57 2 6618916, +57 2 6618797 la.techsupport@alere.com
India: +91 11 45089400

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

Uso previsto

Pima CD4 es un test inmuno-hematológico automático basado en inmunofluorescencia, diseñado para la rápida cuantificación in vitro de células CD3+/CD4+ (células T cooperadoras) en muestras de sangre completa capilar o venosa. Pima CD4 determina el recuento absoluto de células CD3+/CD4+ y está diseñado para obtener el recuento absoluto de linfocitos CD4 en pacientes con diagnóstico documentado de inmunodeficiencia. El Pima CD4 test está diseñado para el uso diagnóstico in vitro.

Introducción

La concentración de células T cooperadoras es un indicador del estado inmunológico del paciente; en pacientes inmunodeficientes el recuento absoluto de células T cooperadoras es esencial para establecer el estado inmunológico inicial, y para monitorear la dinámica de la inmunodeficiencia en el tiempo y la respuesta al tratamiento.[1,2]

Principio del análisis

El Pima CD4 test consta de un Pima Analyser, y para la determinación del recuento absoluto de células T cooperadoras en sangre completa. El Pima CD4 test cartridge descartable está equipado 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 Analyser entra en contacto con la muestra durante todo el proceso de análisis. De esa manera se minimiza el riesgo de contaminación del Analyser y de transferencia de muestras entre mediciones. Tras la inserción del Pima CD4 test cartridge en el Analyser, un movimiento peristáltico transporta primero la muestra al compartimento de incubación donde la muestra interactúa con anticuerpos específicos marcados con dos diferentes colorantes fluorescentes que emitirán luz a dos distintas longitudes de onda (colorante 1 y colorante 2). Uno de los anticuerpos es un anticuerpo monoclonal anti-CD3 humano conjugado al colorante 1. El segundo anticuerpo es un anticuerpo monoclonal anti-CD4 humano conjugado al colorante 2. Luego de un tiempo definido de incubación, la muestra teñida se transfiere a canal de detección del cartucho. El Pima Analyser está equipado con un sistema de detección de fluorescencia multicolor en miniatura. Las señales de fluorescencia son detectadas por una cámara integrada, y los datos son analizados por un computador integrado, utilizando algoritmos de software propios y patentados. Las células T cooperadoras expresan grandes cantidades de antígenos de superficie, CD3 y CD4, y por lo tanto emitirán luz a longitudes de onda específicas para cada uno de los anticuerpos conjugados. Esto permite la diferenciación específica de células T cooperadoras de otros tipos de células sanguíneas portadoras de un solo antígeno de superficie. El Pima Analyser muestra los resultados en medidas de células/µL. Los resultados también se guardan como un archivo oculto interior del Analyser, y se le asigna el número de identificación de muestra que el operador haya teclead previamente en el Pima Analyser, como también la fecha y hora del análisis. El operador puede recuperar y descargar los datos en cualquier momento después del análisis. También es posible conectar la impresora externa Pima Printer a través de un puerto USB del Pima Analyser, para imprimir los resultados del análisis.

Contenido del empaque y almacenamiento

Materiales suministrados

Cada caja Pima CD4 contiene:

- 25 cartuchos en bolsas individuales (Nº de catálogo 2601000025) o 100 cartuchos en bolsas individuales (Nº de catálogo 2601000100)
- 1 Guía del Usuario de Pima™ CD4

Cartridge Guide 2

Almacenamiento

Almacenar a temperaturas entre 2 y 30 °C.

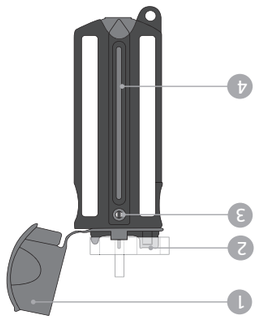
Materiales requeridos no suministrados

- 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.*
  Si se utilizan otras lancetas consulte las instrucciones específicas del fabricante.
- gases con alcohol
- gasas secas
- tiras adhesivas sanitarias

Pima CD4 Test Cartridge

El Pima CD4 test cartridge (cartucho) consta de una base sólida de plástico negro, una tapa de plástico naranja (1), un Sample Collector para cargar la muestra de sangre (2), una ventanilla de control para comprobar que el volumen de la muestra se suministró (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 (éstos dos últimos no se muestran en la imagen).

- **NO** utilice guantes con talco ni las manos desnudas.
- Deje que el cartucho se tiempere al ambiente antes de abrir la bolsa de aluminio.
- **NO** abra la bolsa de aluminio hasta que esté todo 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 cartuchos cuya bolsa de aluminio esté dañada.
- **NO** utilice cartuchos sin alá de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta de la bolsa de aluminio.
- **NO** retire el Sample Collector hasta que la ventanilla de control se haya llenado de 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. Una cubierta dañada puede inducir un mensaje de error.
- **NO** toque ni intente de asliar el tubo de silicona. Un tubo dañado puede inducir un mensaje de error.
- **NO** intente retirar la cubierta posterior naranja del cartucho.
- **NO** abra la bolsa de desecante incluida en la bolsa de aluminio.
- Deseche adecuadamente todos los residuos contaminados de acuerdo a la regulación nacional, regional o local, o incinérelos.
- Para minimizar errores de identificación de las muestras, cada cartucho se debe marcar en la parte prevista del la etiqueta con el número de identificación de la muestra correspondiente.



Sigan las instrucciones adecuadas de prevención y control de infecciones para manejar muestras sanguíneas y materiales relacionados.

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

Cartridge Guide 3

Precauciones

- **NO** utilice guantes con talco ni las manos desnudas.
- Deje que el cartucho se tiempere al ambiente antes de abrir la bolsa de aluminio.
- **NO** abra la bolsa de aluminio hasta que esté todo 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 cartuchos sin alá de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta de la bolsa de aluminio.
- **NO** retire el Sample Collector hasta que la ventanilla de control se haya llenado de 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. Una cubierta dañada puede inducir un mensaje de error.
- **NO** toque ni intente de asliar el tubo de silicona. Un tubo dañado puede inducir un mensaje de error.
- **NO** intente retirar la cubierta posterior naranja del cartucho.
- **NO** abra la bolsa de desecante incluida en la bolsa de aluminio.
- Deseche adecuadamente todos los residuos contaminados de acuerdo a la regulación nacional, regional o local, o incinérelos.
- Para minimizar errores de identificación de las muestras, cada cartucho se debe marcar en la parte prevista del la etiqueta con el número de identificación de la muestra correspondiente.

Obtención de la muestra

Obtención de la muestra de sangre mediante punción digital [3]
(por favor consulte la ilustración del flujo de trabajo en el interior del folleto)

1. Prepara el paciente para la obtención de la muestra por punción digital. Las mejores partes para la punción digital son los dedos 3º y 4º (véase la ilustración Nº 4). No utilice la punta del dedo ni el centro de la yema.
2. Limpie las primeras gotas de sangre con una gasa o paño seco (véase ilustraciones Nº 16-18). Asegúrese que haya un flujo de sangre constante. 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. Cálientel de dedo si es necesario (véase ilustración Nº 5). El paciente debe mantener la mano hacia abajo para aumentar el flujo de sangre a los dedos.
Nota: El paciente debería siempre estar sentado más alto que la persona efectuando la punción digital.
3. Limpie la punta del dedo seleccionado apropiadamente con una gasa de alcohol y deje que el alcohol se seque al aire (véase la ilustración Nº 7).
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. Si es necesario, ajuste adecuadamente el Sample Collector (véase la ilustración en la página 3). Conserve la bolsa de aluminio en caso de que el Analyser no pueda leer el código de barras del cartucho.
5. Utilice una lancetas estéril para realizar la punción de la piel fuera del centro de la yema del dedo. Para obtener una muestra de sangre representativa, un flujo continuo de sangre es imprescindible (véase las ilustraciones Nº 11-15). En el caso de usar una lancetas automática, es esencial presionar la lancetas firmemente en el dedo y mantener contacto ininterrumpido que se extraiga la lancetas. No aprieta 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 sulfoteinamente granades. 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 sosteniendo el cartucho en un ángulo de 45 grados para cargar la muestra (véase ilustración Nº 19). Espere hasta que el capilar del Sample Collector esté completamente lleno de sangre. Luego retire el cartucho del dedo y permita que el paciente aplique presión directa en la herida con una gasa secá limpia (véase ilustraciones Nº 8 y 20).
8. Mantenga el cartucho en posición vertical y observe la ventanilla de control para asegurarse de que se ha cargado suficiente muestra (véase la ilustración Nº 21). Se ha aplicado suficiente sangre cuando el capilar visible en la ventana de sangre está lleno de sangre.
9. Aprete el clip del Sample Collector entre el dedo índice y el pulgar y retire el Sample Collector del cartucho con un movimiento continuo hacia arriba (véase la ilustración Nº 22). Deséchelo como residuo biológico.
10. Cierre completamente la tapa de plástico naranja (véase ilustraciones Nº 23-25).
11. Se recomienda insertar el Pima CD4 test cartridge inmediatamente en el Pima Analyser (véase ilustraciones Nº 26 y 27). De ninguna manera se debe esperar mas de 5 minutos despues de cargar la muestra de sangre.
12. Empache el dedo del paciente (véase ilustración Nº 28).

Cartridge Guide 4

Obtención de sangre completa mediante venopunción [4]

1. Obtenga la sangre de manera asépticia mediante venopunción en un tubo de extracción de sangre con EDTA (ácido etilenediaminotetraacético).
2. Invierta el tubo 8 a 10 veces.
3. Considerelo a temperatura ambiental (entre 18 y 28°C). La muestra debe analizarse dentro de 36 horas después de su extracción.
4. Antes de sacar la muestra para el análisis, invierta el tubo 10 a 15 veces para asegurar que se mezcle el 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 desde el punto 8 descrito en la sección anterior.

Procedimiento del análisis

1. Cargue la muestra al Pima CD4 test cartridge (para más detalles, véase 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 en el cartucho. Siga las instrucciones de la pantalla o consulte la Guía del usuario del Pima Analyser para ver los detalles de como proseguir con el análisis.
4. Cuando el Pima Analyser lo indique, retire el cartucho de sangre.

Función del instrumento: para determinar el Analyser muestra un mensaje de error.

- **Validación de reactivos:** un control de reactivos incorporado en cada Pima CD4 test cartridge valida el establecimiento de la reactivos del análisis. Si los resultados de la validación establecidos durante la fabricación, de reactivos están fuera de los limites establecidos para el análisis, se interrumpe el análisis y el Analyser mostrará un mensaje de error.
- **Volumen de muestra:** el Pima Analyser comprueba si se ha cargado suficiente muestra en el Pima CD4 test cartridge. Si la muestra cargada es insuficiente, el análisis no se iniciará y el Analyser mostrará un mensaje de error.
- **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 el cartucho 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.
- **Función de caducidad:** el código de barras incorporada en el Pima CD4 test cartridge. Si los resultados del control de fluorescencia la función de caducidad del Pima Analyser, se analiza la función de control de fluorescencia del Pima Analyser, se analiza la funcionalidad del Pima Analyser, se analiza el Analyser y de los reactivos.

Las siguientes comprobaciones se realizan automáticamente cuando se inserta el cartucho en el Pima Analyser:

- Invierta el tubo 8 a 10 veces.
- Considerelo a temperatura ambiental (entre 18 y 28°C). La muestra debe analizarse dentro de 36 horas después de su extracción.
- Antes de sacar la muestra para el análisis, invierta el tubo 10 a 15 veces para asegurar que se mezcle el muestra.
- Utilice una pipeta volumétrica o de transferencia para aplicar la muestra de sangre en el Sample Collector del Pima CD4 test cartridge.
- Continúe desde el punto 8 descrito en la sección anterior.

Resultados

El Pima Analyser calcula automáticamente los resultados. El recuento absoluto de celulas T cooperadoras se muestra en la primera de las cuatro ventanas de resultados del Analyser. El operador tiene la opción de imprimir el resultado a través de la impresora externa Pima Printer.

Si desea información adicional, consulte la Guía del usuario del Pima Analyser.

Control de calidad y aceptabilidad de los resultados

Funciones de control de calidad incorporadas

El Pima CD4 test cartridge contiene elementos de autocontrol para comprobar la funcionalidad del Analyser y de los reactivos.

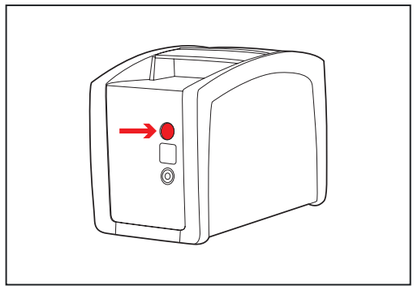
Durante el análisis se realizan varios controles adicionales. Si cualquiera de los controles no es pasado, el Pima Analyser mostrará un mensaje de error. Por favor consulte la Guía del usuario del Pima Analyser por detalles acerca de los mensajes de error.

Cartridge Guide 5

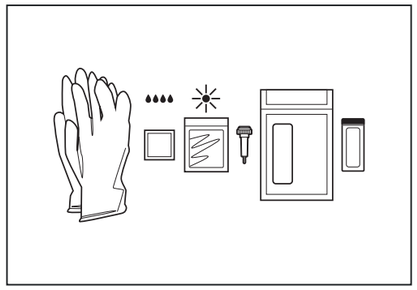
Alere™

Pima™ CD4

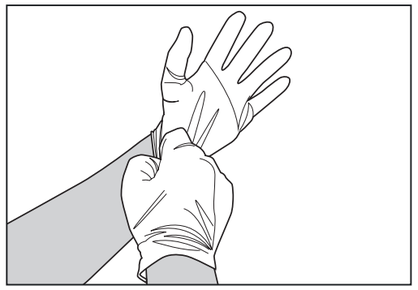
1



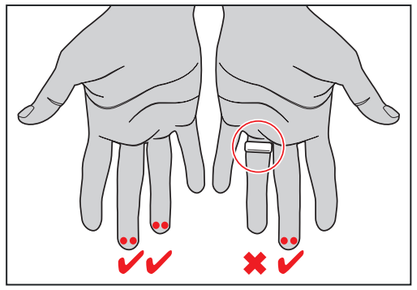
2



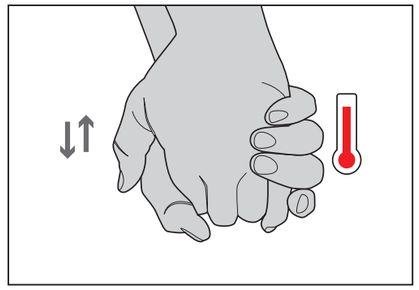
3



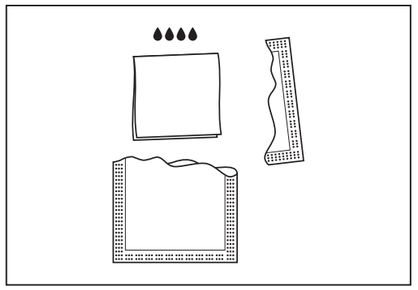
4



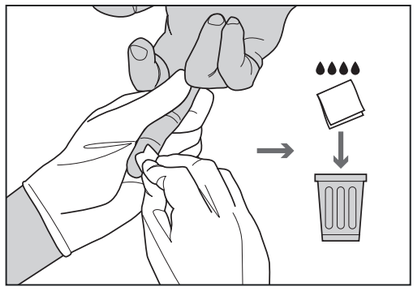
5



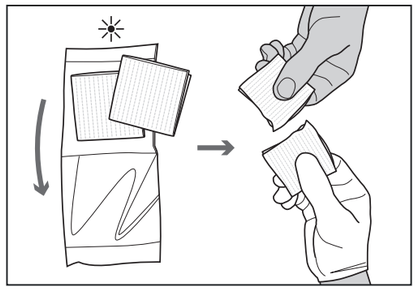
6



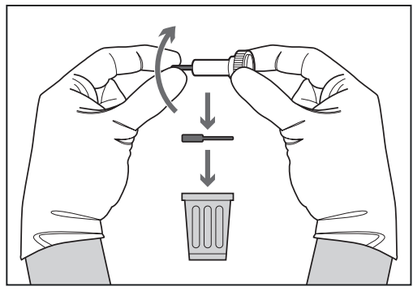
7



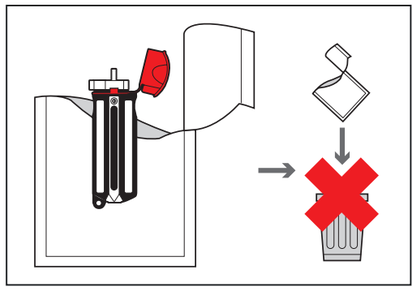
8



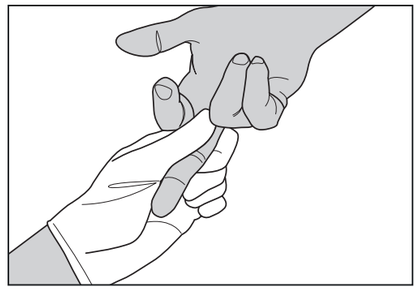
9



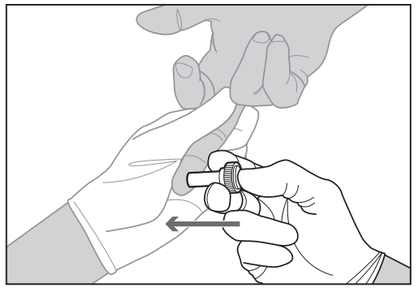
10



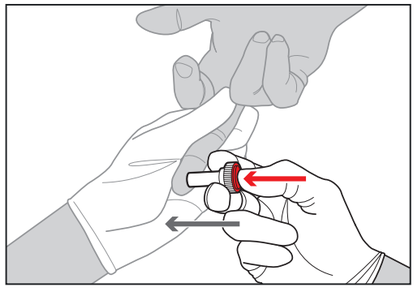
11



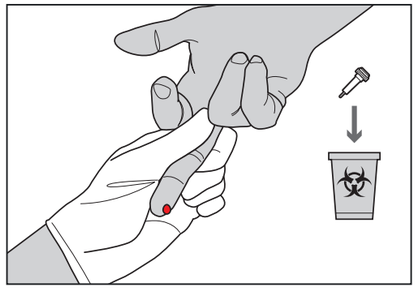
12



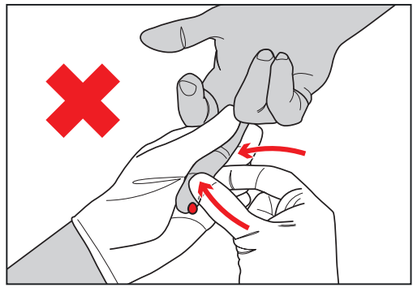
13



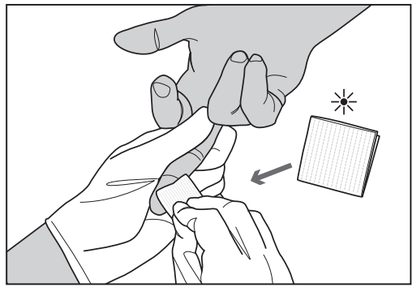
14



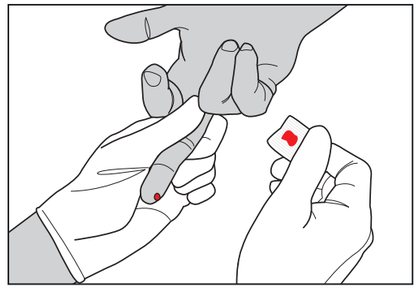
15



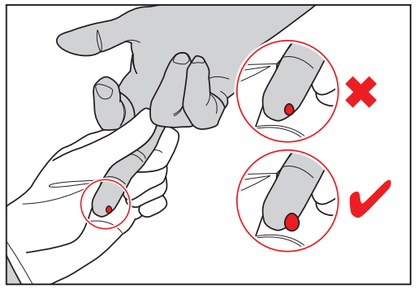
16



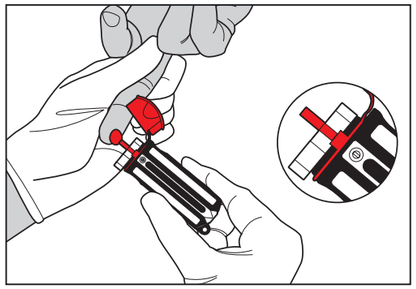
17



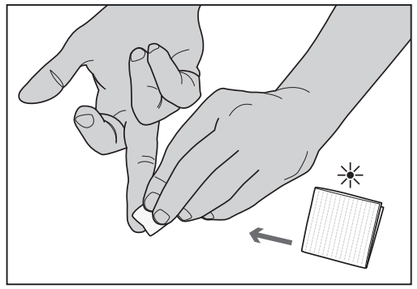
18



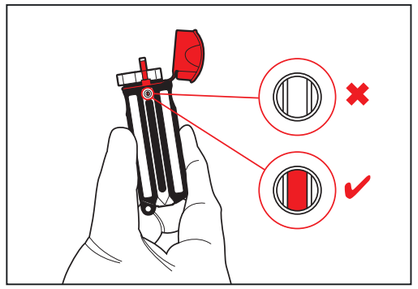
19



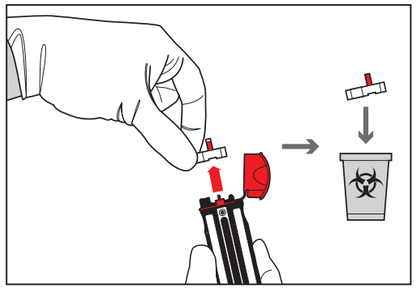
20



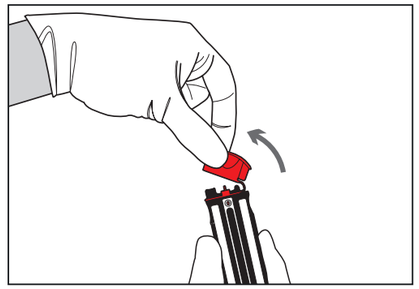
21



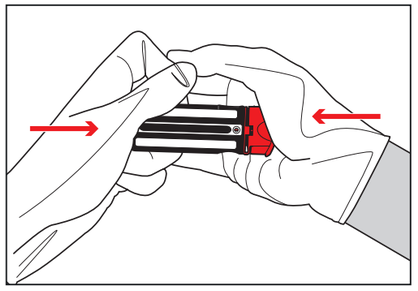
22



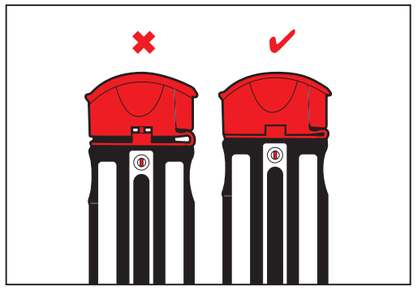
23



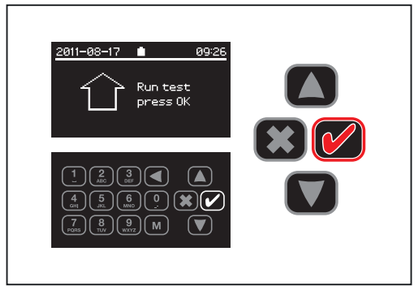
24



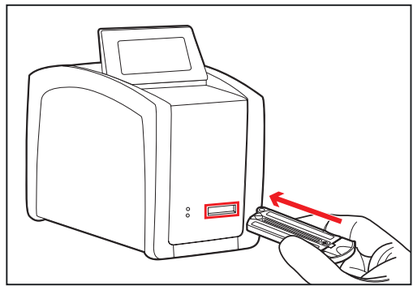
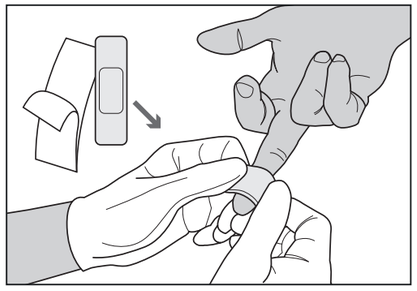
25



26



27



28