



**República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional**  
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

**Disposición**

**Número:**

**Referencia:** 1-0047-3110-007888-22-1

---

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-007888-22-1 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones EXSA S.R.L. solicita se autorice la inscripción en el Registro Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de esta Administración Nacional, de un nuevo/s Producto/s Médico/s para diagnóstico in vitro, Nombre descriptivo: Anticuerpos monoclonales para Citometría de Flujo.

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico in vitro que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización .

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

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

Que corresponde autorizar la inscripción en el RPPTM del producto médico objeto de la solicitud.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92 y sus modificatorias.

Por ello;

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

## DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico de uso in vitro, Nombre descriptivo: Anticuerpos monoclonales para Citometría de Flujo de acuerdo con lo solicitado por EXSA S.R.L. con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Autorízanse los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento GEDO N° IF-2023-129267747-APN-INPM#ANMAT .

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 1489-70 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

ARTICULO 4º.- Extiéndase el Certificado de Autorización e Inscripción en el RPPTM con los datos característicos mencionados en esta disposición.

ARTÍCULO 5º.- La vigencia del Certificado de Autorización será de cinco (5) años, a partir de la fecha de la presente disposición.

ARTÍCULO 6º.- Regístrese. Inscríbese en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica al nuevo producto. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con rótulos e instrucciones de uso autorizados y el Certificado mencionado en el artículo 4º. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

## DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre descriptivo: Anticuerpos monoclonales para Citometría de Flujo

Marca comercial: Sysmex

Modelos:

- 1) Kit CD4 easy count
- 2) Kit CD4% easy count

Indicación/es de uso:

1) El kit CD4 easy count es un test cuantitativo manual de DIV de dos componentes para el marcaje de subpoblaciones de linfocitos en sangre entera venosa adulta con EDTA y la subsiguiente enumeración con el citómetro de flujo para DIV CyFlow™ Counter de Sysmex Partec. La concentración de linfocitos T CD4 de las muestras de sangre es un indicador útil para iniciar o supervisar el tratamiento de personas infectadas por el VIH

junto con otros hallazgos clínicos y de laboratorio.

2) El kit CD4% easy count es un test cuantitativo manual de DIV de cuatro componentes para el marcaje de leucocitos y una subpoblación de linfocitos en sangre entera venosa adulta con EDTA, que pueden a continuación enumerarse con el citómetro de flujo para DIV CyFlow™ Counter de Sysmex Partec. La concentración de linfocitos T CD4 y el CD4% de linfocitos de las muestras de sangre son indicadores útiles para iniciar o supervisar el tratamiento de personas infectadas por el VIH junto con otros hallazgos clínicos y de laboratorio.

Forma de presentación: 1) 1 caja conteniendo 1 Vial de 3 ml y 1 Botella de 100 ml

2) 1 caja conteniendo 1 Vial de 3 ml, 1 Vial de 3 ml y 1 Botella de 100 ml

Período de vida útil y condición de conservación: 1) y 2) Vida Util 16 meses.

1) y 2) Conservación 2° a 8° C.

Nombre del fabricante:

Sysmex Partec GmbH

Lugar de elaboración:

Arndtstraße 11 a-b

02826 Görlitz, Alemania

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Expediente N° 1-0047-3110-007888-22-1

N° Identificadorio Trámite: 44361

AM



## Instructions for Use

### Identification of the IVD reagent

Product name:

### CD4 easy count kit

REF 05-8401

Content:

Vial containing CD4 mAb PE

REF 05-8401-01

Bottle containing no lyse buffer

REF 05-8401-02

### 1 Specification

Specificity	Human CD4
Isotype	IgG1
Content	100 tests
Fluorochrome	PE
Excitation (nm)	532 / 488
Emission maximum (nm)	578

The CD4 easy count kit is a manual, two component, quantitative IVD test for subpopulation labelling of lymphocytes in adult venous EDTA whole blood, and subsequent enumeration with the Sysmex Partec CyFlow™ Counter IVD flow cytometer. The CD4 T-cell concentration of blood samples is a useful indicator for the initiation or follow-up of treatment for HIV positive patens in conjunction with other laboratory and clinical findings.

The test is intended to be performed by trained healthcare professionals.

### 2 Intended Use

**IND** For In Vitro Diagnostic Use. The CD4 easy count kit is a manual, two component, quantitative IVD test for subpopulation labelling of lymphocytes in adult venous EDTA whole blood, and subsequent enumeration with the Sysmex Partec CyFlow™ Counter IVD flow cytometer. The CD4 T-cell concentration of blood samples is a useful indicator for the initiation or follow-up of treatment for HIV positive patens in conjunction with other laboratory and clinical findings.

The test is intended to be performed by trained healthcare professionals.

### 3 Principle of the examination method

An aliquot of an EDTA whole-blood sample is mixed with the antibody (CD4) conjugated to the fluorochrome in a 1:1 ratio. After a fixed incubation time, the buffer is added and the sample is ready for analysis on the CyFlow™ Counter flow cytometer. The light source excites the fluorescent dye linked with the stained cell and the emitted light is detected while a certain volume of blood sample is running through the instrument. The integrated software calculates the concentration of the dedicated cell populations. For further information, please refer to the IFU of the CyFlow™ Counter.

### 4 Storage and shelf life after first opening

1. Storage Store the antibody and buffer reagents at 2 - 8 °C in the dark. Do not freeze or expose the reagents to elevated temperatures and keep them away from direct sunlight.

2. Shelf life after first opening: Always close the bottle after use and use new pipette tips each time the reagent is sampled to avoid contamination. Keep the antibody and buffer reagent at 2 - 8 °C in the dark. Do not freeze or expose the reagents to elevated temperatures and keep them away from direct sunlight.

Under these storage conditions, the CD4 easy count kit will be stable until the expiration date printed on the kit label.

### 5 Components

CD4 mAb PE is a murine monoclonal antibody supplied in PBS buffer with 0.2% BSA and 0.09% sodium azide. No lyse buffer is a PBS-based solution containing 0.09% sodium azide.

### 6 Evidence of deterioration

The antibody and buffer solutions are clear liquids. Do not use the reagents if there is the appearance of any kind of turbidity or contamination. For questions regarding the performance or quality of the product received, please contact your local Sysmex representative.

### 7 Precaution and warnings

Reagents contain 14 mM sodium azide as a preservative. The low concentration of sodium azide does not require hazard labelling, but the normal safety precautions for the handling of chemicals must be observed. Refer to the Safety Data Sheet (SDS) for a complete list of warnings and precautions.

### 8 Additional required equipment

Instrument required:	CyFlow™ Counter (REF No.: CY-S-3022 or CY-S-3023)
Required apparatus:	Sample Tubes 3.5 ml (REF No.: 04-2000) <p>A vented pipette 20 µl and pipette tips A vented pipette 100 – 1000 µl and pipette tips Venous blood collection system with EDTA as anticoagulant Stop watch</p>

### 9 Reagent preparation

CD4 mAb PE (REF No.: 05-8401-01), the antibody reagent is ready to use.

No lyse buffer (REF No.: 05-8401-02), the buffer solution is ready to use.

### 10 Primary sample collection, handling and storage

**WARNING** ⚠ *All biological specimens and material are considered as biohazards and should be handled as if capable of transmitting infection. Appropriate safety precautions and handling procedures must be applied in accordance with applicable laws and regulations.*

- The blood sample must be a venous, whole-blood sample, collected with a blood collection system which contains EDTA as anticoagulant.
- The blood sample must be transported in a dark container, protected from light and not exposed to elevated temperatures. A suitable transport container is, for example, a Styrofoam box with cooling material. Best transport conditions would be below 25 °C if transported and not take more than 6 hours after donation. For transport and storage time more than 6 hours, blood should be kept at 2 - 8 °C.
- Do not freeze and thaw the blood sample.
- For best conditions, the blood sample should be fresh, i.e. not more than six hours should have elapsed between sample collection and analysis.
- Blood samples can be used up to 24 hours after drawing if they are stored in the fridge at 2 – 8 °C.
- Before use, the sample tubes containing the blood must be inverted gently 8 to 10 times.
- Do not use clogged blood samples.

### 11 Examination procedure

**NOTICE** *Reverse pipetting is critical to accuracy especially when dispensing viscous and very small sample volumes. For whole blood pipetting, we recommend using a calibrated electronic pipette which is preprogrammed to operate in the reverse pipetting mode. If an electronic pipette is not available, follow these instructions for manual reverse pipetting:*

- Depress the operating button to the second stop. Let the operating button move up completely, excess sample is drawn up into the tip.*
- Depress the operating button to the first stop to expel a precise volume of blood, leaving excess sample in the tip.*
- Discard pipette tip with excess blood sample in the tip into medical waste container. Please note, you must not use reverse pipetting for antibody or buffer solutions.*

### 11.1 Staining

- Invert the blood sample in the EDTA blood collection tube gently 8 to 10 times.
- Pipette 20 µl EDTA whole blood sample to the bottom of a sample tube, avoid leaving a trail of blood on the inner tube wall from pipette tip. Discard the pipette tip.
- Add 20 µl CD4 mAb PE directly into the blood sample and mix it gently, avoid leaving a trail of blood on the inner tube wall from pipette tip. Discard the pipette tip.
- The sample should not be vortexed at this stage of preparation.

- Incubate the mixture for 15 minutes at room temperature in the dark.
- Add 800 µl no lyse buffer and vortex briefly, or tap tube gently in order to mix the sample. Discard the pipette tip.

- Vortex briefly, or tap tube gently before analysing with the CyFlow™ Counter.

**NOTICE** *The stained blood sample must be analysed within 2 hours after adding the no lyse buffer.*

### 11.2 Sample analysis

Please refer to the IFU of the CyFlow™ Counter for how to operate the instrument before analysing the samples. The start-up procedures and the internal quality control procedure must be successfully completed before sample analysis.

- Choose and load the configuration for CD4 measurement from the „menu bar of CyFlow™ Counter.“
- Insert the sample tube with the prepared blood sample into the sample port.
- Start measurement.
- After sample run, the instrument stops and cleans automatically.
- Remove and dispose of blood sample in accordance with local laboratory biohazard safety procedures.

Do not start a second measurement with the same sample tube. If a duplicate or repeat measurement is required, a second sample tube should be prepared as per 11.1.

### 11.3 Data acquisition and analysis

Data analysis with the CyFlow™ Counter is only possible if the internal quality control of the instrument was successful.

Please refer to the IFU of the CyFlow™ Counter for proper start-up procedure and maintenance of the device, if necessary.

The CD4 T-cell counting result will be displayed on the screen. If the histogram does not show a clear peak of the CD4 positive stained T-cells, the sample preparation and measurement must be repeated.

Results will be incorrect if gate positioning is not done precisely. Be careful not to gate monocytes as CD4 positive stained cells if CD4 concentration is extremely low in a patient blood sample.

### 12 Calculation of examination results

Calculation of the cell concentration is part of the software-based data analysis, which provides the result in CD4 cells per µl blood sample each of each measurement.

For further information, please refer to the IFU of the CyFlow™ Counter.

### 13 Interpretation of results

Human Immunodeficiency Virus (HIV) is one of the main reasons for CD4 cell depletion, which debilitates the immune system. Results should be interpreted by physicians, in conjunction with the locally applicable HIV treatment guidelines.

### 14 Control procedure

Appropriate quality control should be performed according to local and national regulations. A variety of standardized blood samples are available on the market, only a few are suitable when using certain flow cytometers. If the acceptance criterion of the individual control material is not met do not proceed with patient specimen testing and contact your local Sysmex representative.

For further information about the use of adequate control material, please contact your local Sysmex representative.

### 15 Performance characteristics

#### 15.1 Specificity

The mouse monoclonal antibody MEM-241 recognizes the human CD4 antigen, a transmembrane glycoprotein (55 kDa) of the immunoglobulin supergene family, present on a subset of T-lymphocytes (T-helper/T-H cells) and expressed at a lower level on monocytes, tissue macrophages and granulocytes. HCDM (former H.LDA VIII) Meeting, May 2006, Québec, Canada; WS Code M241 Detection capability. The evaluation for Limit of Blank (LoB) and Limit of Detection (LoD) and Limit of Quantitation (LoQ) was carried out according to the definition in the guideline. CLSI EP17-A2.

LoB:   ≤50% of LoD
LoD:   ≥20 CD4 cells/µl
LoQ:   ≥40 CD4 cells/µl

#### 15.2 Repeatability

Intra- and inter-assay variation:

CV values are less than 10% for CD4 values of 200 CD4 T-cells/µl or above.

CV values are less than 15% for CD4 absolute values below 200 CD4 T-cells/µl.

#### 15.3 Linearity

The measuring range of the assay and linearity of the measurement are valid over the range:
CD4 absolute: 40-2500 CD4 T-cells/µl

#### 15.4 Trueness

EDTA whole blood specimen were stained with CD4 easy count kit and analysed on the CyFlow™ Counter. CD4 absolute values were compared with results from a BD FACSCalibur using BD Tristest CD3/CD4/CD45 and BD Trucount tubes and showed a bias of -15,13% between both methods.

### 16 Limitations

**CAUTION** ⚠ *Sysmex Partec CD4 easy count kits (05-8401) have not been validated for use with pediatric and adolescent patients.*

**CAUTION** ⚠ *Patient measurements of CD4 and CD4% made using Sysmex Partec assays should not be used independently with other manufacturer's methods of determining CD4 and CD4%. Use the assays only with the Sysmex Partec instruments. Values obtained using other equipment or assays may not be interchangeable.*

Different endogenous and exogenous substances were tested regarding the CLSI EP07-A2 guideline for possible interfering effects which could have an influence to the blood sample analysis. Finally, ± 18% haemolysis (induced by using the protocol recommended in the CLSI EP07-A2, Appendix G, G1 – Osmotic Shock Procedure) was observed to show an interfering effect. For that reason haemolyzed samples should be rejected.

For further questions regarding the performance of the product, please contact your local Sysmex representative.

### 17 Literature references

- M. Fryland, P. Chaillet, R. Zachariah, A. Barnaba, L. Bonte, R. Andereseasen, S. Charrondiére, R. Teck, O. Didakou. (2006). The Partec CyFlow Counter® could provide an option for CD4+ T-cell monitoring in the context of scaling-up antiretroviral treatment at the district level in Malawi. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 100(10):980-5
- L. Zijenah, G. Kadzirange, S. Madzime, M. Borok, C. Mudwira, O. Tobaiwa, M. Mucheche, S. Rusakaniko, D. Katzenstein. (2006). Affordable flow cytometry for enumeration of absolute CD4+ T-lymphocytes to identify subtype C HIV-1 infected adults requiring antiretroviral therapy (ART) and monitoring response to ART in a resource-limited setting. Journal of Translational Medicine 4:33
- H. Karcher, D. Bohning, R. Downing, S. Mashate, G. Harms. (2006). Comparison of two alternative methods for CD4+ T-cell determination (Coulter manual CD4 count and CyFlow) against standard dual platform flow cytometry in Uganda. Clinical Cytometry, 70B (3):163-69
- S. Kohreandum, S. Dettraira. (2012). Evaluation of the Partec Single-Platform Volumetric CyFlow® Counter System for Determining Percentage and Absolute Numbers of CD4 T Lymphocytes in HIV/AIDS Thai Patients. Thai AIDS J, 25:1-10
- D. Wade, P.A. Diaw, G. Daneau, M. Camara, T.N. Drieye, S. Mboup, L. Kestens. (2013). CD4 T-Cell Enumeration in a Field Setting: Evaluation of CyFlow Counter Using the CD4 Easy Count Kit-Dry and Pima CD4 Systems. PLOS ONE, 8(9): e75484

### 18 Contact of manufacturer

<b>Manufacturer</b> Sysmex Partec GmbH		
	Arndstraße 11 a-b 02826 Görlitz, Germany www.sysmex-partec.com	Tel +49 3581 8746 0 Fax +49 3581 8746 70 E-mail: info@sysmex-partec.com

### 19 Version number of IFU and date of issue

Revision: Rev-008\_05-04-2022, CN 2452  
Issued by: Sysmex Partec GmbH

Safety Data Sheet for this product is available at www.sysmex-partec.com/services.



### Identifikation des IVD-Reagens

Produktname:

### CD4 easy count kit

REF 05-8401

Inhalt:

Ampulle mit CD4 mAb PE

REF 05-8401-01

Flasche mit No-Lyse-Puffer

REF 05-8401-02

### 1 Spezifikation

<b>Spezitätät</b>	<b>Humanes CD4</b>
Isotyp	IgG1
Inhalt	100 Tests
Fluorochrom	PE
Excitation (nm)	532 / 488
Emissionsmaximum (nm)	578

### 2 Zweckbestimmung

**IND** In-vitro-Diagnostikum.

Das CD4 easy count kit ist ein manueller, quantitativer 2-Komponenten-In-Vitro-Test für die Markierung von Lymphozyten-Untergruppen in venösen EDTA-Vollblutproben von Erwachsenen und deren anschließender Auszählung mit dem Sysmex Partec IVD-Flowzytometer CyFlow™ Counter. Die Konzentration der CD4-positiven T-Helferzellen in Blutproben ist in Verbindung mit anderen Laborwerten und klinischen Befunden ein nützlicher Indikator für die Einleitung der Behandlung HIV-positiver Patienten und die Nachsorge. Der Test ist nur von geschulten medizinischen Fachkräften durchzuführen.

### 3 Prinzip des Untersuchungsverfahrens

Ein Aliquot einer EDTA-Vollblutprobe wird mit dem an das Fluorochrom konjugierten Antikörper (CD4) in einem Verhältnis von 1:1 gemischt. Nach einer bestimmten Inkubationszeit wird der Puffer hinzugegeben; hier kann die Analyse der Probe in einem CyFlow™ Counter-Flowzytometer erfolgen. Die Lichtquelle regt den Fluoreszenzfarbstoff an, mit dem die Zellen markiert wurden, und das emittierte Licht wird, während ein bestimmtes Volumen der Blutprobe das Instrument durchläuft, detektiert. Die Konzentration der spezifischen Zellpopulation wird von der integrierten Software berechnet. Weitere Informationen entnehmen Sie bitte dem Benutzerhandbuch des CyFlow™ Counter.

### 4 Lagerung und Haltbarkeitsdauer nach dem ersten Öffnen

- Lagerung: Das Antikörper- und Pufferreagenz bei 2 – 8 °C im Dunkeln aufbewahren. Nicht einfrieren oder erhöhten Temperaturen aussetzen. Vor direkter Sonneneinstrahlung schützen.
- Haltbarkeitsdauer nach dem ersten Öffnen: Die Flasche nach jedem Gebrauch wieder verschließen und für jede weitere Entnahme des Reagens neue Pipettenspitzen verwenden, um eine Verunreinigung zu vermeiden.
- Das Antikörper- und Pufferreagenz bei 2 – 8 °C im Dunkeln aufbewahren. Nicht einfrieren oder erhöhten Temperaturen aussetzen. Vor direkter Sonneneinstrahlung schützen.
- Unter Einhaltung aller oben genannten Lagerbedingungen ist das CD4 easy count kit bis zum Verfallsdatum auf dem Etikett des Kits stabil.

### 5 Bestandteile

CD4 mAb PE ist ein muriner monoklonaler Antikörper in PBS-Puffer mit 0,2 % BSA und 0,09 % Natriumazid. No-Lyse-Puffer ist eine Lösung auf PBS-Basis, die 0,09 % Natriumazid enthält.

### 6 Anzeichen von Verderb

Die Antikörper- und Pufferlösungen sind klare Flüssigkeiten. Die Reagenzien nicht verwenden, falls Trübungen oder Verunreinigungen auftreten. Bei Fragen zur Leistung oder Qualität des Produkts wenden Sie sich bitte an Ihre nächstgelegene Sysmex-Vertretung.

### 7 Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

Die Reagenzien enthalten 14 mM Natriumazid als Konservierungsstoff. Die geringe Konzentration von Natriumazid erfordert keine Gefahrenkennzeichnung, jedoch sind die beim Umgang mit Chemikalien üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu beachten. Beachten Sie das Sicherheitsdatenblatt (SDB) für eine vollständige Liste von Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen.

### 8 Zusätzlich erforderliche Ausrüstung

Erforderliche Instrumente:	CyFlow™ Counter (REF No.: CY-S-3022 oder CY-S-3023)
Benötigte Ausrüstung:	Sample Tubes 3,5 ml (REF No.: 04-2000) <p>Eine verteilte 20-µl-Pipette und Pipettenspitzen Eine verteilte 100- bis 1000-µl-Pipette und Pipettenspitzen System zur venösen Blutentnahme mit EDTA als Antikoagulant Stopfrohr</p>

### 9 Reagensvorbereitung

CD4 mAb PE (REF No.: 05-8401-01), das Antikörperreagenz ist gebrauchsfertig.

No-Lyse-Puffer (REF No.: 05-8401-02), die Pufferlösung ist gebrauchsfertig.

### 10 Entnahme, Handhabung und Lagerung der Primärprobe

**WARNING** ⚠ *Alle biologischen Proben und Materialien sind als gefährliches biologisches Material und als potenziell infektiös zu behandeln. Es sind angemessene Sicherheitsvorkehrungen und Verfahren zur Handhabung gemäß den geltenden Gesetzen und Vorschriften anzuwenden.*

- Bei der Blutprobe muss es sich um eine venöse Vollblut-Probe handeln, die mithilfe eines Blutentnahmensystems entnommen wurde, das EDTA als Antikoagulant verwendet.
- Die Blutprobe ist in einem dunklen, vor Licht geschützten Behälter zu transportieren und darf nicht erhöhten Temperaturen ausgesetzt werden. Ein geeigneter Transportbehälter ist z. B. eine Styroporbox mit Kühlung. Die besten Transportbedingungen werden unter 25 °C liegen, wenn der Transport nicht länger als 6 Stunden nach der Spende dauern würde. Für eine Transport- und Lagerzeit von mehr als 6 Stunden muss das Blut bei 2 - 8 °C aufbewahrt werden.
- Die Blutprobe nicht einfrieren und wieder auftauen.
- Optimale Bedingungen sind bei Verwendung einer frischen Blutprobe gegeben, d. h. es sollten nicht mehr als sechs Stunden zwischen der Blutentnahme und der Analyse liegen.
- Bei Lagerung im Kühlschrank bei 2 – 8 °C können Blutproben bis zu 24 Stunden nach der Entnahme verwendet werden.
- Vor der Anwendung die Probenröhrchen 8- bis 10-mal vorsichtig umdrehen.
- Keine geronnenen Blutproben verwenden.

### 11 Untersuchungsverfahren

**Hinweis** *Reverses Pipettieren ist entscheidend für die Genauigkeit, insbesondere bei der Abgabe viskoser und sehr kleiner Probenmengen. Für das Pipettieren von Vollblut empfehlen wir die Verwendung einer kalibrierten elektronischen Pipette, die für den Betrieb im reversen Pipettiermodus vorprogrammiert ist.*

Sticht keine elektronische Pipette zur Verfügung, führen Sie das reverse Pipettieren gemäß den folgenden Anweisungen manuell durch:

- Bedienknopf bis zum zweiten Anschlag herunterdrücken. Bedienknopf vollständig zurückfallen lassen. Es wird eine größere Menge Probe in die Spitze aufgezogen.
- Bedienknopf bis zum ersten Anschlag herunterdrücken, um ein genaues Blutvolumen abzugeben. Anschließend befindet sich noch ein Rest der Probe in der Spitze.
- Pipettenspitze auf dem verbleibenden Rest der Blutprobe in einen Behälter für medizinische Abfälle entsorgen.
- Beachten Sie bitte, dass reverses Pipettieren nicht für Antikörper- oder Pufferlösungen eingesetzt werden darf.

### 11.1 Markierung

- Die Blutprobe im EDTA-Blutentnahmeröhrchen 8- bis 10-mal vorsichtig umdrehen.
- 20 µl EDTA-Vollblutprobe auf den Boden eines Probenröhrchens pipettieren. Dabei keine Blutspuren von der Pipettenspitze auf der Röhrcheninnenwand hinterlassen. Entsorgen Sie die Pipettenspitze.

- 20 µl CD4 mAb PE direkt in die Blutprobe geben und vorsichtig mischen. Dabei keine Blutspuren von der Pipettenspitze auf der Röhrcheninnenwand hinterlassen. Entsorgen Sie die Pipettenspitze.
- Probe zu diesem Zeitpunkt nicht vortexen.

- Inkubation für 15 Minuten bei 15-30 °C im Dunkeln.
- 800 µl No-Lyse-Puffer hinzugeben und kurz vortexen oder das Röhrchen sanft aufklopfen, um die Probe zu mischen. Entsorgen Sie die Pipettenspitze.

## Benutzerhandbuch

### 11.2 Probenanalyse

Bitte vor der Probenanalyse das Benutzerhandbuch des CyFlow™ Counter für die Verwendung des Geräts beachten. Vor der Probenanalyse müssen die Verfahren zur Inbetriebnahme und internen Qualitätskontrolle erfolgreich abgeschlossen worden sein.

- Wählen und laden Sie die Konfiguration für die CD4-Messung aus der Menüleiste des CyFlow™ Counter.
- Das Probenröhrchen mit dem vorbereiteten Blut in den Probenstempel stecken.
- Die Messung starten.
- Nach dem Probenbruchstopp das Instrument und wird automatisch gereinigt.
- Die Blutprobe entnehmen und gemäß den internen Sicherheitsvorschriften in Bezug auf biogefährliche

Materialien in Labors entsorgen.

Keine erneute Messung mit denselben Probenröhrchen durchführen. Wenn eine Zweifelmessung oder

eine Wiederholung der Messung erforderlich ist, muss ein zweites Probenröhrchen wie unter 11.1 beschrieben vorbereitet werden.

### 11.3 Datenerfassung und -analyse

Die Datenanalyse kann erst erfolgen, wenn die interne Qualitätskontrolle des CyFlow™ Counter erfolgreich abgeschlossen wurde.

Im Benutzerhandbuch des CyFlow™ Counter finden Sie eine Beschreibung der korrekten Inbetriebnahme und Wartung des Geräts.

Die CD4-T-Zellzahl wird auf dem Bildschirm angezeigt. Zeigt das Histogramm keine eindeutige Erhöhung der markierten CD4-positiven T-Zellen an, muss die Probenvorbereitung und -messung wiederholt werden. Es kommt zu falschen Ergebnissen, wenn das Gaten nicht korrekt durchgeführt wird. Achten Sie darauf, Monozysten nicht als markierte CD4-positive Zellen zu gaten, wenn die CD4-Konzentration der Patientenblutprobe sehr niedrig ist.

### 12 Berechnung der Untersuchungsergebnisse

Die Berechnung der Zellkonzentration erfolgt im Rahmen der Software-basierten Datenanalyse. Die Ergebnisse werden nach jeder Messung als CD4-Zellen pro µl Blutprobe dargestellt.

Weitere Informationen entnehmen Sie bitte dem Benutzerhandbuch des CyFlow™ Counter.

### 13 Interpretation der Ergebnisse

Das Humane Immunodefizienzvirus (HIV) ist einer der Hauptgründe für die CD4-Zelledepletion, die das Immunsystem beeinträchtigt. Die Ergebnisse sollten von Ärzten in Verbindung mit lokal anwendbaren HIV-Behandlungsrichtlinien interpretiert werden.

### 14 Kontrollverfahren

Es sollte eine geeignete Qualitätskontrolle gemäß den geltenden nationalen Laborvorschriften durchgeführt werden.

Im Handel ist ein breites Angebot an stabilisierten Blutproben erhältlich, jedoch sind bei Verwendung bestimmter Flowzytometer nur wenige geeignet. Wenn das Annahmekriterium des betreffenden Kontrollmaterials nicht erfüllt ist, die Patientenprobe nicht analysieren. Wenden Sie sich in diesem Fall an Ihre nächstgelegene Sysmex-Vertretung. Weitere Informationen über die Verwendung geeigneter Kontrollmaterials können Sie ebenfalls bei Ihrer nächstgelegenen Sysmex-Vertretung erhalten.

### 15 Leistungsmerkmale

#### 15.1 Spezifität

Der monoklonale Maus-Antikörper MEM-241 erkennt das humane CD4-Antigen, ein transmembränes Glykoprotein (55 kDa) der Immunoglobulin-Superfamilie, das auf einer Untergruppe von T-Lymphozyten (T-Helferzellen) exprimiert wird, sowie in geringerer Menge auf Monozysten, Gewebsmakrophagen und Granulozyten. HCDM (ehemals H.LDA VIII) Meeting, Mai 2006, Québec, Kanada; WS Code M241

#### 15.2 Nachweisfähigkeit

Die Lauerwert-Obergrenze (Limit of Blank, LoB), die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) und die Quantifizierungsgrenze (Limit of Quantitation, LoQ) wurden gemäß den Spezifikationen der Richtlinie CLSI EP17-A2 ermittelt.

Analyse mit dem CyFlow™ Counter kurz vortexen oder das Röhrchen sanft aufklopfen.  
**HINWEIS** Nach der Zugabe von No-Lyse-Puffer müssen die Proben innerhalb von 2 Stunden analysiert werden.

Ajouter 20 µl de CD4 mAb PE directement dans l'échantillon de sang et mélanger doucement en évitant de laisser un filet de sang sur la paroi intérieure du tube avec l'embout de pipette. Jeter la pointe de la pipette.  
• Exemple à ce moment ne pas vortexer.  
• Incuber le mélange pendant 15 minutes à 15-30 °C dans l'obscurité.  
• Ajouter 800 µl de no lyse buffer (tampon sans lyse) et mélanger brièvement au vortex ou tapoter doucement le tube afin de mélanger l'échantillon. Jeter la pointe de la pipette.  
• Mélanger brièvement au vortex ou tapoter doucement le tube avant d'effectuer l'analyse à l'aide du CyFlow™ Counter.

**19 Numéro de version du guide d'utilisation et date de publication**  
Révision : Rev-008\_05-04-2022\_CN 2452  
Publiée par : Sysmex Partec GmbH

La fiche de données de sécurité de ce produit est disponible à l'adresse suivante : [www.sysmex-partec.com/](http://www.sysmex-partec.com/) services.

  
LILIANA E. PARODI  
FARMACEUTICA  
MAT. 9357

  
EZEQUIEL BOEZIO  
SOCIO-GERENTE



## Instrucciones de uso

Identificación del reactivo para DIV
Nombre del producto:

Kit CD4 easy count REF 05-8401

Contenido:
Vial con mAb CD4-PE REF 05-8401-01
Botella con solución amortiguadora sin lisís REF 05-8401-02

<b>1 Descripción</b>	
Especificidad	CD4 humano
Isotipo	IgG1
Contenido	100 tests
Fluorocromo	PE
λ excitación (nm)	532/488
Emisión máxima (nm)	578

### 2 Uso previsto

[10] Para diagnóstico in vitro.
El kit CD4 easy count es un test cuantitativo manual de DIV de dos componentes para el marcaje de sub-poblaciones de linfocitos en sangre entera venosa adulta con EDTA y la subsiguiente enumeración con el citómetro de flujo para DIV CyFlow™ Counter de Sysmex Partec. La concentración de linfocitos T CD4 de las muestras de sangre es un indicador útil para iniciar o supervisar el tratamiento de personas infectadas por el VIH junto con otros hallazgos clínicos y de laboratorio.
El test está previsto para su uso por parte de profesionales sanitarios con la formación correspondiente.

### 3 Principio del método de análisis

Se mezcla una alícuota de una muestra de EDTA de sangre completa con el anticuerpo (CD4) conjugado con el fluorocromo en una proporción 1:1. Tras un tiempo fijo de incubación, se añade la solución amortiguadora y la muestra está lista para su análisis en un citómetro de flujo CyFlow™ Counter.
La fuente de luz excita el colorante fluorescente unido a la célula teñida; se detecta la luz emitida durante el paso de un determinado volumen de sangre a través del instrumento. La concentración de la población celular específica se calcula con el software integrado.

Para más información, consulte las instrucciones de uso de CyFlow™ Counter.

### 4 Almacenamiento y tiempo de conservación tras abrir por primera vez

1. Almacenamiento:
Almacene los reactivos de anticuerpos y solución amortiguadora en un lugar oscuro a 2-8 °C. No congele ni exponga los reactivos a temperaturas elevadas o a la luz solar directa.
2. Tiempo de conservación tras abrir por primera vez:
Cierre siempre la botella después de su uso y utilice puntas de pipeta nuevas cada vez que tome muestras del reactivo para evitar la contaminación.
Mantenga el reactivo de anticuerpos y solución amortiguadora en un lugar oscuro a 2-8 °C. No congele ni exponga cualquier tipo de turbidez o contaminación.

En estas condiciones de almacenamiento, el kit CD4 easy count permanecerá estable hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del kit.

### 5 Componentes

mAb CD4-PE es un anticuerpo monoclonal murino suministrado en una solución amortiguadora PBS con un 0,2% de SAB y un 0,09% de azida de sodio. La solución amortiguadora sin lisís es una solución con base de PBS que contiene un 0,09% de azida de sodio.

### 6 Indicios de deterioro

El reactivo de anticuerpos y la solución amortiguadora son líquidos transparentes. No utilice el reactivo si aparece cualquier tipo de turbidez o contaminación.
Si tiene alguna pregunta con respecto al funcionamiento o a la calidad del producto recibido, contacte con su representante local de Sysmex.

### 7 Precaución y advertencias

Los reactivos contienen 14 mM de azida de sodio como conservante. Dado su reducida concentración de azida de sodio, no requiere un etiquetado como producto de riesgo, pero se deben observar las precauciones de seguridad normales para la manipulación de sustancias químicas. Consulte la ficha técnica de seguridad para obtener una lista completa de advertencias y precauciones.

### 8 Equipamiento adicional necesario

Instrumental necesario:
CyFlow™ Counter (REF No.: CY-S-3022 o CY-S-3023)

Equipamiento requerido:
Tubos de ensayo de 3,5 ml (REF No.: 04-2000)
Una pipeta verificada de 20 µl y puntas de pipeta
Una pipeta verificada de 100-1000 µl y puntas de pipeta
Sistema de extracción de sangre venosa con EDTA como anticoagulante
Cronómetro

### 9 Preparación del reactivo

mAb CD4-PE (REF No.: 05-8401-01), el reactivo de anticuerpos está listo para su uso.
Solución amortiguadora sin lisís (REF No.: 05-8401-02), la solución amortiguadora está lista para su uso.

### 10 Principios básicos de extracción, manipulación y almacenamiento de muestras

**ADVERTENCIA** ⚠ *Todas las muestras y materiales biológicos se consideran material de riesgo biológico y deberán manipularse como si fueran potencialmente infecciosos. Se deben observar las precauciones de seguridad y procedimientos de manipulación adecuados conforme a la legislación y normativa.*

- La muestra de sangre debe ser una muestra de sangre entera, extraída con un sistema de extracción de sangre que contenga EDTA como anticoagulante.
- La muestra de sangre debe transportarse en un contenedor oscuro, protegido de la luz y no expuesto a temperaturas elevadas. Un contenedor de transporte adecuado es, por ejemplo, una caja de poliestireno expandido con material refrigerante. Las mejores condiciones de transporte estarían por debajo de los 25 °C si el transporte no demora más de 6 horas después de la donación. Para el transporte y el tiempo de almacenamiento de más de 6 horas, la muestra debe mantenerse a 2 - 8 °C.
- No se puede congelar y descongelar la muestra de sangre.
- En condiciones óptimas la muestra de sangre debería ser reciente, es decir, no deberían haber pasado más de seis horas entre la extracción y el análisis de la muestra.
- Las muestras de sangre se pueden utilizar hasta 24 horas después de la extracción si se almacenan en el frigorífico a 2-8 °C.
- Los tubos con las muestras de sangre se deben voltear con suavidad de 8 a 10 veces antes de ser utilizados.
- No utilice muestras de sangre coaguladas.

### 11 Procedimiento de análisis

*El pipeteado inverso es fundamental para la precisión, en particular cuando se dispensan volúmenes de muestra viscosos y muy pequeños. Para el pipeteado de sangre completa, recomendamos emplear una pipeta electrónica calibrada que esté preprogramada para funcionar en modo de pipeteado inverso. Si no hay disponible una pipeta electrónica, siga las presentes instrucciones para llevar a cabo un pipeteado inverso manual:*

- Presione el botón de funcionamiento hasta el segundo paso. Deje que el botón de funcionamiento asiente por completo; la muestra sobrante se aspirará a la punta.
- Presione el botón de funcionamiento hasta el primer paso para expulsar un volumen concreto de sangre, dejando así la muestra sobrante dentro de la punta.
- Elimine la punta de la pipeta que contiene la muestra de sangre sobrante en un contenedor para residuos médicos.

Tenga en cuenta que no debe utilizar el pipeteado inverso para soluciones de anticuerpos ni soluciones tampón.

	<p>Fabricante Sysmex Partec GmbH</p> <p>Amdstraße 11 a-b 22825 Götzitz, Alemania www.sysmex-partec.com</p> <p>Tel: +49 3581 8746 70 Fax: +49 3581 8746 70 E-mail: info@sysmex-partec.com</p>
--	--

- 11.1 Tinción
  - Voltee con suavidad de 8 a 10 veces el tubo de extracción de sangre con EDTA que contiene la muestra de sangre.
  - Deje reposar la pipeta 20 µl de la muestra de sangre entera con EDTA al fondo de un tubo de muestra y evite

manchar la pared interior del tubo con la sangre de la punta de la pipeta. Descarte la punta de la pipeta.

Añada 20 µl de mAb CD4-PE directamente en la muestra de sangre y mézclelo suavemente, evitando manchar la pared interior del tubo con la sangre de la punta de la pipeta. Descarte la punta de la pipeta.

- Incubar la mezcla durante 15 minutos a 15-30 °C en la oscuridad.
- Añada 800 µl de la solución amortiguadora sin lisís y agite brevemente con la agitadora vortical, o bien golpee suavemente el tubo para mezclar la muestra. Descarte la punta de la pipeta.
- Agite brevemente mediante agitadora vortical, o bien golpee suavemente el tubo antes del análisis con el CyFlow™ Counter.

**Aviso**
*Las muestras se deben analizar en un periodo máximo de 2 horas tras la adición de la solución amortiguadora sin lisís.*

### 11.2 Análisis de la muestra

En las instrucciones de uso de CyFlow™ Counter puede consultar el modo del empleo del equipo antes de

analizar las muestras. Los procedimientos de puesta en marcha y el proceso de control de calidad interno deben completarse con éxito antes de iniciar el análisis de la muestra.

- Elija y cargue la configuración para la medición de CD4 desde la barra de menú del CyFlow™ Counter.
- Inserte el tubo de muestras con la muestra de sangre preparada en el acoplamiento para muestras.
- Inicie la medición.
- Tras el análisis de la muestra, el dispositivo se detiene y se limpia automáticamente.
- Retire y deseché la muestra de sangre conforme a los procedimientos locales de seguridad en laboratorio frente a riesgos biológicos.

No inicie una segunda medición con el mismo tubo de muestras. Si se requiere una repetición de la medición, se debe preparar un segundo tubo de muestras conforme a 11.1.

### 11.3 Adquisición y análisis de datos

El análisis de datos con CyFlow™ Counter solo es posible si el control de calidad interno del instrumento ha resultado satisfactorio.
Consulte las instrucciones de uso del CyFlow™ Counter para realizar, si fuera necesario, el procedimiento de inicio y mantenimiento del dispositivo de forma adecuada. El resultado del recuento de las células T CD4 aparecerá en la pantalla. Si el histograma no muestra un pico claro de las células T con tinción positiva para CD4, se deben repetir la preparación de la muestra y la medición. Los resultados serán incorrectos si no se realiza una aspiración previa. Asegúrese de no acortar menoscas con células con tinción positiva para CD4 si la concentración de CD4 es extremadamente baja en la muestra de sangre de un paciente.

### 12 Cálculo de los resultados del análisis

El cálculo de la concentración celular forma parte del análisis de datos informático, el cual suministra el resultado en células CD4 por µl de muestra de sangre después de cada medición.
Para más información, consulte las instrucciones de uso de CyFlow™ Counter.

### 13 Interpretación de los resultados

El virus de la inmu-deficiencia hu-mana (VIH) es uno de los principales motivos del ago-tamiento de las células CD4, que debilita el sistema inmunitario. Las respuestas deben ser interpretadas por los médicos, en conjunción con las pruebas de tratamiento del VIH aplicables local-mente.

### 14 Procedimiento de control

Se debe realizar un control de calidad apropiado conforme a las normativas nacionales para laboratorios. Se han comercializado diversas muestras de sangre estabilizada, pero solo unas pocas son adecuadas cuando se utilizan determinados citómetros de flujo.

Si no se cumple el criterio de aceptación del material de control específico, no prosiga con el análisis de la muestra del paciente y póngase en contacto con su representante local de Sysmex.

Para más información sobre el uso de material de control adecuado, póngase en contacto con su representante local de Sysmex.

### 15 Eficacia diagnóstica

#### 15.1 Especificidad

El anticuerpo monoclonal murino MEM-241 reconoce el antígeno humano CD4, una glicoproteína transmembranaria (55 kDa) de la superfamilia de las inmunoglobulinas, presente en un subconjunto de linfocitos T (células T cooperadoras/inductoras) y expresada en menor medida en monocitos, macrófagos y granulocitos. Congreso de HCDM (anteriormente HLD-A VIII), mayo de 2006, Quebec, Canadá. Código WS: M241.

#### 15.2 Capacidad de detección

La evaluación del límite de inclusión (LI), el límite de detección (LD) y el límite de cuantificación (LC) se realizó de acuerdo con las indicaciones de la directriz CLSI EP17-A2.

LI: >50% del LD

LD: >20 células CD4/µl

LC: >40 células CD4/µl

#### 15.3 Repetibilidad

Variación intra e interanalítica:

Los valores de volumen celular suponen menos del 10% para valores de CD4 > 200 células T CD4/µl. Los valores de volumen celular suponen menos del 15% para valores absolutos de CD4 inferiores a 200 células T CD4/µl.

#### 15.4 Linealidad

El intervalo de medición del ensayo y la linealidad de la medición son válidos en el intervalo: CD4 absoluto: 40-2500 células T CD4/µl.

#### 15.5 Veracidad

Las muestras de sangre entera con EDTA se teñieron con el kit CD4 easy count y se analizaron en el CyFlow™ Counter. Se compararon los valores de CD4 absoluto con los resultados de un BD FACSCalibur utilizando BD Tritest CD3/CD4/CD45 y tubos BD Trucount y se puso de manifiesto una divergencia del -22,56% entre ambos métodos.

### 16 Limitaciones

**CUIDADO** ⚠ *Para los kits de Sysmex Partec CD4 easy count (05-8401) no está validado para utilizarlos en pacientes pediátricos y adolescentes.*

**CUIDADO** ⚠ *Las mediciones en pacientes de CD4 y CD4% mediante las pruebas de Sysmex Partec no deben usarse independientemente para determinar CD4 y CD4% con métodos de otros proveedores. Utilizar las pruebas exclusivamente con los instrumentos de Sysmex Partec. Es posible que los valores obtenidos mediante otros equipos o pruebas no sean intercambiables.*

Se analizaron diferentes sustancias endógenas y exógenas conforme a la directriz CLSI EP07-A2 para detectar posibles efectos de interferencia que pudieran influir en el análisis de la muestra de sangre. Finalmente, se observó un ±18% de hemólisis (provocada por el uso del protocolo recomendado en CLSI EP07-A2, apéndice G, G1, «Procedimiento de choque osmótico») como muestra de un efecto de interferencia. Por ese motivo, se deben rechazar las muestras hemolizadas.
Si tiene alguna pregunta más con respecto al funcionamiento del producto, póngase en contacto con su representante local de Sysmex.

### 17 Referencias bibliográficas

- 1) M. Fryland, P. Chaillet, R. Zachariah, A. Barnaba, L. Bonte, R. Andreassens, S. Charrondière, R. Teck, O. Didikus. (2006). The Partec CyFlow Counter™ could provide an option for CD4+ T-cell monitoring in the context of scaling-up antiretroviral treatment at the district level in Malawi. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 100(10):980-5
- 2) L. Zijenah, G. Kadzirange, S. Madzime, M. Borok, C. Mudwa, O. Tobaiwa, M. Mucheche, S. Rusakaniko, D. Katzenstein. (2006). Affordable flow cytometry for enumeration of absolute CD4+ T-lymphocytes to identify subtype C HIV-1 infected adults requiring antiretroviral therapy (ART) and monitoring response to ART in a resource-limited setting. Journal of Translational Medicine 4:33
- 3) H. Karcher, D. Bohning, R. Downing, S. Mashate, G. Harms. (2006). Comparison of two alternative methods for CD4+ T-cell determination (Coulter manual CD4 count and CyFlow) against standard dual platform flow cytometry in Uganda. Clinical Cytometry, 70B (3):163-69
- 4) S. Kohrsenudom, S. Dettraira. (2012). Evaluation of the Partec Single-Platform Volumetric CyFlow™ Counter System for Determining Percentage and Absolute Numbers of CD4 T Lymphocytes in HIV/AIDS Thai Patients. Thai AIDS J, 25:1-10
- 5) D. Wade, P.A. Diaw, G. Daneau, M. Camara, T.N. Dyeie, S. Mboup, L. Kestens. (2013). CD4 T-Cell Enumeration in a Field Setting: Evaluation of CyFlow Counter Using the CD4 Easy Count Kit-Dry and Pima CD4 Systems. PLoS ONE, 8(9): e75484

### 18 Contacto del fabricante

	<p>Fabricante Sysmex Partec GmbH</p> <p>Amdstraße 11 a-b 22825 Götzitz, Alemania www.sysmex-partec.com</p> <p>Tel: +49 3581 8746 70 Fax: +49 3581 8746 70 E-mail: info@sysmex-partec.com</p>
--	--

- Muestra en este momento no lo hacen viables.

### Identificação do reagente IVD

Nome do produto:

### CD4 easy count kit

REF 05-8401

Conteúdo:

Recipiente contendo CD4 mAb PE REF 05-8401-01
Frasco com tampão sem lise REF 05-8401-02

<b>1 Especificacao</b>	
Especificidade	CD4 humano
Isotipo	IgG1
Conteúdo	100 testes
Fluorocromo	PE
λ excitación (nm)	532/488
Retiro e emissão (nm)	578

### 2 Uso previsto

[10] Para uso no diagnóstico in vitro.
O CD4 easy count kit é um teste IVD manual quantitativo com dois componentes, para a marcação de uma subpopulação de linfócitos em sangue total EDTA venoso de adulto e enumeração subsequente com o citômetro de fluxo IVD Sysmex Partec CyFlow™ Counter. A concentração de células T CD4 das amostras de sangue é um indicador útil para iniciar ou o acompanhamento do tratamento de pacientes com VIH positivo em conjunção com outros resultados laboratoriais e clínicos.
O teste destina-se a ser realizado por profissionais de saúde devidamente qualificados.

### 3 Princípio do metodo de analise

Uma alíquota de uma amostra de sangue total com EDTA é misturada com o anticorpo (CD4) conjugado com o fluorocromo numa proporção de 1:1. Após um tempo de incubação fixo, o tampão é adicionado e a amostra fica pronta para análise num citômetro de fluxo CyFlow™ Counter.

A fonte de luz excita o corante fluorescente ligado com a célula corada e a luz emitida é detetada enquanto um determinado volume de amostra de sangue estiver a fluir através do instrumento.

A concentração da população de células específicas é calculada pelo software integrado.

Para mais informações, consulte as instruções de utilização do CyFlow™ Counter.

### 4 Armazenamento e prazo de validade apos a primeira abertura

1. Armazenamento:
Armazene os reagentes tampão e de anticorpos entre 2 e 8 °C no escuro. Não congele nem exponha os reagentes a temperaturas elevadas e mantenha-os protegidos da luz solar direta.

2. Prazo de validade após a primeira abertura:
Feche sempre o frasco após a utilização e utilize pontas de pipeta novas de cada vez que o reagente e quando se utilizar determinados citômetros de fluxo.

Se não se cumpre el critério de aceitação del material de control específico, no prosiga con el análisis de la muestra del paciente y póngase en contacto con su representante local de Sysmex.

Para más información sobre el uso de material de control adecuado, póngase en contacto con su representante local de Sysmex.

### 5 Componentes

O CD4 mAb PE é um anticorpo monoclonal murino fornecido em tampão PBS com 0,2% de BSA e 0,09% de azida de sodio. O tampão sem lise é uma solução baseada em PBS contendo 0,09% de azida de sodio.

### 6 Indício de deterioração

As soluções tampão e de anticorpos são líquidos transparentes. Não utilize os reagentes caso surja qualquer tipo de turbidez ou contaminação.
Para questões relativas ao desempenho ou qualidade do produto recebido, entre em contacto com o representante local da Sysmex para obter suporte técnico.

### 7 Precaucões e advertências

Os reagentes contem 14 mM de azida de sodio como conservante. A baixa concentração de azida de sódio não exige a rotulagem como substância perigosa, mas é necessário ficar os precaucoes de segurança normais relativas ao manuseamento dos produtos químicos. Consulte a ficha de segurança para obter uma lista completa das advertências e precauções.

### 8 Equipamento adicional necessário

Instrumento necessário:
CyFlow™ Counter (REF No.: CY-S-3022 ou CY-S-3023)

Equipamento necessário:
Tubos de amostra de 3,5 ml (REF No.: 04-2000)
Uma pipeta verificada de 20 µl y puntas de pipeta
Uma pipeta verificada de 100-1000 µl y puntas de pipeta
Sistema de coleta de sangue venoso com EDTA como anticoagulante
Cronometro

### 9 Preparacao do reagente

CD4 mAb PE (REF No.: 05-8401-01), o reagente de anticorpos esta pronto a usar.

Tampão sem lise (REF No.: 05-8401-02), a solução de tampão esta pronta a usar.

### 10 Coleta, manuseamento e armazenamento da amostra principal

**ADVERTENCIA** ⚠ *Todas as amostras biológicas e materiais são considerados como perigosos e devem ser manuseados como sendo capazes de transmitir infecções. É necessário aplicar precauções de segurança e procedimentos de manuseamento adequados em conformidade com as leis e regulamentos aplicáveis.*

- A amostra de sangue tem de ser uma amostra de sangue total venoso, recolhida com um sistema de coleta de sangue, que contém EDTA como anticoagulante.
- A amostra de sangue tem de ser transportada num recipiente escuro, protegida da luz e não exposta a temperaturas elevadas. Um recipiente de transporte adequado é, p. ex., uma caixa de espuma de poliestireno com material de refrigeração. As melhores condições de transporte seriam inferiores a 25 °C se o transporte não durar mais de 6 horas após a doação. Para transporte e tempo de armazenamento superior a 6 horas, o sangue deve ser mantido a 2 - 8 °C.
- No congele e descongele a amostra de sangue.
- A fim de assegurar as melhores condições, a amostra de sangue deve ser fresca, ou seja, o tempo de coleta e a análise da mesma não pode ser superior a seis horas.
- As amostras de sangue podem ser utilizadas até 24 horas após a coleta, desde que tenham sido armazenadas no frigorífico entre 2 e 8 °C.
- Antes da utilização, os tubos de amostra que contem o sangue devem ser invertidos cuidadosamente 8 a 10 vezes.
- Não utilize amostras de sangue coaguladas.

### 11 Procedimento de analise

<b>NOTA</b>	<p><i>A pipetagem reversa é fundamental para a precisão, sobretudo ao dispensar volumes de amostra viscosos e muito reduzidos. Para a pipetagem de sangue total, recomendamos a utilização de uma pipeta eletrónica calibrada pré-programada para operar em modo de pipetagem reversa. Se não estiver disponível uma pipeta eletrónica, seguir estas instruções para a pipetagem reversa manual:</i></p> <ul style="list-style-type: none"><li>Pressir o botão de operação até ao segundo passo de operação. Deixar o botão de operação subir completamente o excesso de amostra para ser removido.</li> <li>Pressir o botão de operação até ao primeiro passo de operação para expulsar um volume excedente de sangue, deixando o excesso da amostra na ponta.</li> <li>Deitar a ponta da pipeta com a amostra de sangue em excesso no conector de lixo hospitalar.</li></ul> <p><i>Ter em atenção que a pipetagem reversa não pode ser usada para anticorpos ou soluções tampão.</i></p>
-------------	--

### 11.1 Coloracao

- Inverta cuidadosamente a amostra de sangue no tubo de amostra de sangue com EDTA 10 vezes.
- Pipete 20 µl de amostra de sangue total EDTA ate ao fundo de um tubo de amostra, evitando deixar um rasto de sangue na parede interior do tubo com a ponta de pipeta. Descarte a ponta de pipeta.
- Adicione 20 µl de mAb CD4-PE diretamente na amostra de sangue e mézclelo suavemente, evitando

### 19 Número de versión de las instrucciones de uso y fecha de publicación

Revisio: Rev-008\_05-04-2022\_CN 2452Publicado
por: Sysmex Partec GmbH

## Instruções de utilização

- Centrifugue brevemente ou bata cuidadosamente no tubo antes de efetuar a análise com o CyFlow™ Counter.

**NOTA**
Após a adicao do tampao sem lise, as amostras tem de ser analisadas dentro de 2 horas.

### 11.2 Analise da amostra

Consulte as instruções de utilização do CyFlow™ Counter para obter informações sobre como operar o instrumento antes de analisar as amostras. Os procedimentos de arranque e o procedimento interno de controlo da qualidade tem de ser concluídos com exito antes da análise da amostra.

• Escolha e carregue a configuração para medição de CD4 na barra de menu do CyFlow™ Counter.
• Insira o tubo de amostra com a amostra de sangue preparada na porta de amostragem.
• Inicie a medição.
• Após o processamento da amostra, o instrumento para e limpa-se automaticamente.
• Retire e elimine a amostra de sangue de acordo com os procedimentos de segurança locais do laboratório em termos de perigo biológico.
• Não inicie uma segunda medição com o mesmo tubo de amostra. Se for necessária uma duplicação ou repeticao da medição, tera de ser preparado um segundo tubo de amostra tal como descrito em 11.1.

### 11.3 Aquisicao e analise de dados

El análisis de datos con CyFlow™ Counter so e possível caso o controlo de qualidade interno do instrumento tenha sido executado com exito.
Consulte as instruções de utilização do CyFlow™ Counter para informacoes sobre o procedimento de arranque e a manutenção devidos do dispositivo. Se necessário,

consulte as instruções de uso do CyFlow™ Counter para realizar, si fuera necesario, el procedimiento de inicio y mantenimiento del dispositivo de forma adecuada. El resultado del recuento de las células T CD4 aparecerá en la pantalla. Si el histograma no presenta un pico claro de las células T coradas positivas CD4, a preparacao e medição da amostra tem de ser repetidas.
Caso o posicionamento da placa não seja efetuado com precisão, os resultados serao incorretos.
Caso a concentração de CD4 seja extremamente baixa numa amostra de sangue do paciente, tenha o cuidado de não colocar monocitos na placa em vez de células coradas positivas CD4.

### 12 Cálculo dos resultados da analise

O cálculo da concentração de células faz parte da análise de dados baseada em software, que fornece o resultado em células CD4 por microlitros de amostra de sangue µl, após cada medição.

Para mais informações, consulte as instruções de utilização do CyFlow™ Counter.

### 13 Interpretação dos resultados

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) é uma das principais razões para a depleção de células CD4, que debilita o sistema imune. Os resultados devem ser interpretados pelos médicos, em conjunção com os diretrizes locais de tratamento do HIV.

### 14 Procedimento de controlo

Deve ser realizado um controlo da qualidade apropriado de acordo com regulamentos laboratoriais nacionais.

Encontra-se disponível no mercado uma variedade de amostras de sangue estabilizado, mas poucas são adequadas para a utilização de certos tipos de fluxo.

Se não for cumprido o critério de aceitação do material de controlo individual, não avance para o teste da amostra do paciente e entre em contacto com o seu representante local da Sysmex.
Para mais informações acerca do uso de material de controlo adequado, entre em contacto com o seu representante local da Sysmex.

### 15 Características de desempenho

#### 15.1 Especificidade

O anticorpo monoclonal do tipo MEM-241 reconhece o antígeno CD4 humano, uma glicoproteína transmembranra (55 kDa) da família do supergene da imunoglobulina, presente num subconjunto de linfócitos T (células T auxiliares/indutoras) e expressa a um nível inferior em monocitos, granulócitos e macrófagos do tecido. Conferencia sobre HCDM (o anterior HLD-A VIII), maio de 2006, Quebec, Canada; código WS M241

#### 15.2 Capacidade de deteacao

**19 Numero de versao das instrucoes de utilizacao e data da publicacao**

Revisao : Rev-008\_05-04-2022\_CN 2452 Publicado por:  
Systmex Partec GmbH

A ficha de seguranca deste produto esta disponivel em [www.systmex-partec.com/services](http://www.systmex-partec.com/services).

**11.1 Окрашивание**

- Аккуратно поверните пробирку с СЭП4 и обработайте кровь от 8 до 10 сек.
- Переместите пилетку 20 мм от края чашечки крови с СЭП4 на дно пробирки для анализа, не оставляя наконечник пилетки следов крови на внутренней стенке пробирки. Обработайте наконечник пилетки.
- Добавьте 20 мкл раствора антигена СЭ4 п/д РЕ непосредственно в образец крови и аккуратно перемешайте, не оставляя наконечник пилетки следов крови на внутренней стенке пробирки. Обработайте наконечник пилетки.
- Обращайтесь в это время не закрывая.

Производитель:  
Systmex Partec GmbH  
Amdtstraße 11 a-b  
02826 Görlitz, Германия  
[www.systmex-partec.com](http://www.systmex-partec.com)

Тел:+49 3581 8746 0  
Факс:+49 3581 8746 70  
Эл. почта:[info@systmex-partec.com](mailto:info@systmex-partec.com)

**19 Номер редакци и дата выпуска ИЭ** Редакция: ред -008\_05-04-2022\_CN 2452 Выпущено:  
Systmex Partec GmbH



- Инкубируйте смесь в течение 15 минут при температуре 15-30 °C в темноте.




Паспорт безопасности данного продукта доступен на веб-сайте [www.systmex-partec.com/services](http://www.systmex-partec.com/services).

  
EZEQUIEL BOEZIO  
SOCIO-GERENTE

  
LILIANA E. PARODI  
FARMACEUTICA  
MAJ. 9357

## Product Labels

**Product:** CD4 easy count kit  
**Code No.:** 05-8401

Product Label	Container Type	Label Size
 <p>The label for the CD4 easy count kit includes the Sysmex logo, product name, and identification details. It specifies the reference number (REF 05-8401) and lot number (LOT). The description states it is for the identification and enumeration of the CD4+ helper/inducer T-lymphocyte subset in human blood samples. Contents include one vial of CD4 mAb PE (05-8401-01) and one lyse buffer bottle (05-8401-02). Storage instructions are 2°C to 8°C. The label also features CE, IVD, and I icons, the website www.sysmex-partec.com/services, and the manufacturer information: Sysmex Partec GmbH, Arndtstraße 11a-b, 02826 Görlitz, Germany. A barcode is present with the sample EAN (01)04250878904382(17)201113(10)700103 and Lab-0109-2.</p>	cardboard box (white)	70 x 50 mm
 <p>The label for the CD4 mAb PE component includes the Sysmex logo, product name, and identification details. It specifies the reference number (REF 05-8401-01) and lot number (LOT). The description states it is for the identification and enumeration of the CD4+ helper/inducer T-lymphocyte subset in human blood samples. Storage instructions are 2°C to 8°C. The label also features CE, IVD, and I icons, the website www.sysmex-partec.com/services, and the manufacturer information: Sysmex Partec GmbH, Arndtstraße 11a-b, 02826 Görlitz, Germany. Lab-0110-2 is also noted.</p>	3 ml glass vial (amber glass) with white PP cap	50 x 19 mm
 <p>The label for the no lyse buffer component includes the Sysmex logo, product name, and identification details. It specifies the reference number (REF 05-8401-02) and lot number (LOT). The description states it is for the identification and enumeration of the CD4+ helper/inducer T-lymphocyte subset in human blood samples. Storage instructions are 2°C to 8°C. The label also features CE, IVD, and I icons, the website www.sysmex-partec.com/services, and the manufacturer information: Sysmex Partec GmbH, Arndtstraße 11a-b, 02826 Görlitz, Germany. Lab-0111-2 is also noted.</p>	100 ml glass bottle (amber glass) with white PP cap	60 x 30 mm



LILIANA E. PARODI  
 FARMACEUTICA  
 MAT. 9357



EZEQUIEL BOEZIO  
 SÓCIO-GERENTE



**FABRICANTE: SYSMEX PARTEC GMBH**

**DIREC.: Armdtstrabe 11 a- b 02826**

**GORLITZ ,Alemania**

**PRODUCTO: C D 4**

**MARCA:SYSMEX**

**IMPORTADOR: EXSA S.R.L**

**DIRECCION: AV.ADER 3620 MUNRO**

**D. T. FARM.:PARODI LILIANA EDITH MN:9357**

**UTILIZADO POR EL M.S Y A.S., AUTORIZADO**

**POR ANMAT: PM 1489- 70**

**NO UTILIZAR SI EL ENVASE SE ENCUENTRA**

**DAÑADO O ABIERTO VENTA EXCLUSIVA A**

**PROFESIONALES E INST. SANITARIAS**

  
EZEQUIEL BOEZIO  
SOCIO-GERENTE

  
LILIANA E. PARODI  
FARMACEUTICA  
MAJ. 9357



## Instructions for Use

Identification of the IVD reagent

Product name: CD4% easy count kit

Content:	REF 05-8405
Vial containing CD4 mAb PE	REF 05-8405-01
Vial containing CD45 mAb PE-Cy5	REF 05-8405-02
Bottle containing Buffer 1	REF 05-8405-03
Bottle containing Buffer 2	REF 05-8405-04

1 Spezifikation	Human CD4	Human CD45
Spezifität	IgG1	IgG1
Isotyp	100 tests	100 tests
Contentu	PE	PE-Cy5
Fluorochrome	532/488	532/488
Excitation (nm)	578	670
Emission maximum (nm)		

2 Intended Use [VD] For In Vitro Diagnostic Use.

The CD4% easy count kit is a manual, four-component, quantitative IVD test for labelling of leukocytes and a subpopulation of lymphocytes in an adult, venous EDTA whole blood, which can then be enumerated with the Sysmex Partec CyFlow™ Counter IVD flow cytometer. The CD4 T-cell concentration and CD4% of lymphocytes are useful indicators for the initiation or follow-up of treatment for HIV positive patients in conjunction with other laboratory and clinical findings. The test is intended to be performed by trained healthcare professionals.

### 3 Principle of the examination method

An aliquot of an EDTA whole-blood sample is mixed with two antibodies (CD4 and CD45), each conjugated to a different fluorochrome for labelling dedicated cell populations. After a fixed incubation time, the two buffer solutions are added and the sample is ready for analysis on the CyFlow™ Counter flow cytometer. The light source excites the fluorescent dye linked to the stained cell and the emitted light is detected while a precise volume of blood sample is running through the instrument. The concentration of the dedicated cell populations is calculated by the integrated software.

4 Storage and shelf life after first opening

1. Storage: Store the antibody and buffer reagents at 2 - 8 °C in the dark. Do not freeze or expose the reagents to elevated temperatures and keep them away from direct sunlight.

2. Use: Always close the bottle after use and use new pipette tips each time the reagent is sampled to avoid contamination. Under these storage conditions, the CD4% easy count kit will be stable until the expiration date printed on the label.

5 Components

CD4 mAb PE and CD45 mAb PE-Cy5 are murine monoclonal antibodies supplied in PBS buffer with 0.2% BSA and 0.0% sodium azide. Buffer 1 and Buffer 2 are PBS-based solutions containing 0.09% sodium azide.

6 Evidence of deterioration

The antibody and buffer solutions are clear liquids. Do not use the reagents if there is the appearance of any kind of turbidity or contamination. For questions regarding the performance or quality of the product, please contact your local Sysmex representative.

7 Precaution and warnings

Reagents contained in this kit are used as a preservative. The low concentration of sodium azide does not require hazard labelling, but the normal safety precautions for the handling of chemicals must be observed. Refer to the Safety Data Sheet (SDS) for a complete list of warnings and precautions.

8 Additional required equipment

Instrument requirement: CyFlow™ Counter (REF No.: CY-S-3022 or CY-S-3023)

Required apparatus: Sample Tubes 3.5 ml (REF No.: 04-2000)

A verified pipette 10 µl and pipette tips

A verified pipette 20 µl and pipette tips

A verified pipette 100 - 1000 µl and pipette tips

Venous blood collection system with EDTA as anticoagulant

Stop watch

9 Reagent preparation

CD4 mAb PE (REF No.: 05-8405-01), the antibody reagent is ready to use.

CD45 mAb PE-Cy5 (REF No.: 05-8405-02), the antibody reagent is ready to use.

Buffer 1 (REF No.: 05-8405-03), the buffer solution is ready to use.

Buffer 2 (REF No.: 05-8405-04), the buffer solution is ready to use.

10 Primary sample collection, handling and storage

WARNING: All biological specimens and material are considered as biohazards and should be handled as if capable of transmitting infection. Appropriate safety precautions and handling procedures must be applied in accordance with applicable laws and regulations.

The blood sample must be a venous, whole-blood sample, collected with a blood collection system which contains EDTA as anticoagulant.

The blood sample must be transported in a dark container, protected from light and not exposed to elevated temperatures in a suitable transport container is, for example, a Styrofoam box with cooling material. Best transport conditions would be below 25 °C; if transport will not take more than 6 hours after donation.

For transport and storage time more than 6 hours, blood must be kept at 2 - 8 °C.

Do not freeze and do not thaw the blood sample.

For best conditions, the blood sample should be fresh, i.e. not more than six hours should have elapsed between sample collection and analysis.

Blood samples can be used up to 24 hours after drawing if they are stored in the fridge at 2 - 8 °C.

Do not use the sample tubes containing the blood must be inverted gently 8 to 10 times.

Do not use clogged blood samples.

11 Examination procedure

Reverse pipetting is critical to accuracy especially when dispensing viscous and very small sample volumes. For whole blood pipetting, we recommend using a calibrated electronic pipette which is pre-programmed to operate in the reverse pipetting mode.

If an electronic pipette is not available, follow these instructions for manual reverse pipetting:

Depress the operating button to the second stop. Let the operating button move up completely, excess sample is drawn up into the tip.

Depress the operating button to the first stop to expel a precise volume of blood, leaving excess sample in the tip.

Discard pipette tip with excess blood sample in the tip into medical waste container.

Please note, you must not use reverse pipetting for antibody or buffer solutions.

11.1 Staining

Invert the blood sample in the EDTA blood collection tube gently 8 to 10 times.

Pipette 20 µl EDTA whole blood sample to the bottom of a 3.5 ml sample tube, avoid leaving a trail of blood on the inner tube wall from pipette tip. Discard the pipette tip.

Add 10 µl CD4 mAb PE directly into the blood sample and mix it gently, avoid leaving a trail of blood on the inner tube wall from pipette tip. Discard the pipette tip.

Add 10 µl CD45 mAb PE-Cy5 directly into the blood sample and mix it gently, avoid leaving a trail of blood on the inner tube wall from pipette tip. Discard the pipette tip.

Incubate the mixture for 15 minutes at 15 - 30 °C in the dark.

Add 400 µl Buffer 1 and vortex briefly, or tap tube gently in order to mix the sample. Discard the pipette tip.

Add 400 µl Buffer 2 and vortex briefly, or tap tube gently in order to mix the sample. Discard the pipette tip.

Vortex briefly, or tap tube gently before analysing with the CyFlow™ Counter.

NOTICE: After addition of Buffer 2, samples must be stored for up to 2 - 8 °C in the dark. Do not use the sample later than that or if not prepared accordingly.

11.2 Sample analysis

Please refer to the IFU of the CyFlow™ Counter for how to operate the instrument before analysing the sample. The start-up procedure and the internal quality control procedure must be successfully completed before sample analysis.

Choose and load the configuration for CD4% measurement from the menu bar of CyFlow™ Counter.

Insert the sample tube with the prepared blood sample into the sample port.

Start measurement.

After sample run, the instrument stops and cleans automatically.

Remove and dispose of blood sample in accordance with local laboratory biohazard safety procedures.

Do not start a second measurement with the same sample tube. If a duplicate or repeat measurement is required, a second sample tube has to be prepared as per 11.1.

11.3 Data acquisition and analysis

Data analysis with the CyFlow™ Counter is only possible if the internal quality control of the instrument was successful.

Please refer to the IFU of the CyFlow™ Counter for start-up procedure and maintenance of the device, if necessary.

The CD4 T-cell counting result, CD4 percentage and total count of lymphocytes will be displayed on the screen. For results to be reliable there must be good separation of cell clusters as shown in Figure 1. If the clusters of stained cells towards the debris signals in the CD45 - SSC dot plot are not clearly separable (see Figure

not clearly separable, the sample preparation and measurement must be repeated.

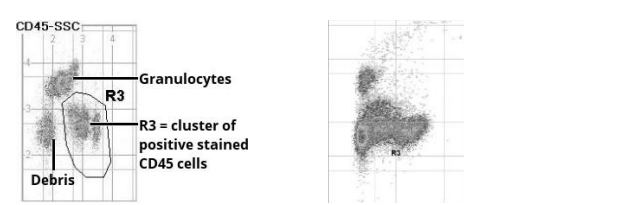


Figure 1: Example of well separated clusters of granulocytes. Other CD45 positive stained leukocytes and debris signals.

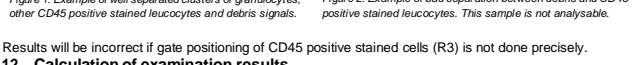


Figure 2: Example of bad separation between debris and CD45. Other CD45 positive stained leukocytes. This sample is not analysable.

Results will be incorrect if gate positioning of CD45 positive stained cells (R3) is not done precisely.

12 Calculation of examination results

Calculation of the cell concentration is part of the software-based data analysis, which provides the result in CD4%, and CD4% cells per µl blood sample after each measurement. For further information, please refer to the IFU of the CyFlow™ Counter.

13 Interpretation of results

Human Immunodeficiency Virus (HIV) is one of the main reasons for CD4 cell depletion, which debilitates the immune system. Results should be interpreted by physicians, in conjunction with locally applicable HIV treatment guidelines.

14 Control procedure

Appropriate quality control should be performed according to local and national regulations. A variety of standardized blood samples are available on the market, only a few are suitable, when using certain flow cytometer. If the acceptance criterion of the individual control material is not met, do not proceed with patient specimen testing and contact your local Sysmex representative. For further information about the use of adequate control material, please contact your local Sysmex representative.

15 Performance characteristics

15.1 Specificity

The antibody MEM-241 recognizes CD4 antigen, a 55 kDa transmembrane glycoprotein expressed on a subset of T lymphocytes (‘helper’ T-cells) and on monocytes, tissue macrophages and granulocytes. HCM (former HLA VIII) Meeting, May 2006, Québec, Canada; W5 Code M241

The antibody MEM-28 reacts with all alternative forms of human CD45 antigen (Leukocyte Common Antigen), a 180-220 kDa single chain type I transmembrane protein expressed at high level on all cells of hematopoietic origin, except erythrocytes and platelets. HLA III; W5 Code NL 833a

15.2 Detection ability

The antibody MEM-28 reacts with all alternative forms of human CD45 antigen (Leukocyte Common Antigen), a 180-220 kDa single chain type I transmembrane protein expressed at high level on all cells of hematopoietic origin, except erythrocytes and platelets. HLA III; W5 Code NL 833a

15.3 Repeatability

Intra- and inter-assay variation: CV values are less than 10% for CD4 values and 20% CD4 T-cells/µl or above. CV values are less than 10% for CD4% values for 25% or above.

CV values are less than 15% for CD4 absolute values below 200 CD4 T-cells/µl. SD values are less or equal to 2.5% for CD4% values below 25%.

15.4 Linearity

The measuring range of the assay and linearity of the measurement are valid over the range: CD4 absolute: 40-2500 CD4 T-cells/µl

CD4%: 4 - 60%

15.5 Trueness

EDTA whole blood specimen were stained with CD4% easy count kit and analysed on the CyFlow™ Counter (CyView™ 2.11). CD4 absolute and CD4% values were compared with results from a BD FACSCalibur using BD Tristest CD3/CD4/CD45 and BD Trucount tubes and showed a bias of -22.56% (CD4 absolute) and +2.1% (CD4%) between both methods.

16 Limitations

CAUTION: Probenreagenzien CD4% easy count kits (05-8405) haben nicht been validiert für usage with pediatric and adolescent patients.

CAUTION: Patient measurements of CD4 and CD4% made using Sysmex Partec assays should not be used alongside measurements obtained from other manufacturers' methods of determining CD4 and CD4%. Use the assays only with Sysmex Partec instruments. Values obtained using other equipment or assays are not interchangeable.

Different endogenous and exogenous substances were tested regarding the CLSI EP07-A2 guideline for possible interfering effects which could have an influence to the blood sample analysis. Finally, ≥ 18% haemolysis (induced by using the protocol recommended in the CLSI EP07-A2, Appendix G, G1 - Osmotic Shock Procedure) was observed to show an interfering effect. For that reason, haemolyzed samples should be rejected. For CD4 and CD4% determination in whole blood samples with CyFlow™ Counter assays, no other anticoagulant than EDTA should be used.

For further questions regarding the performance of the product, please contact your local Sysmex representative.

17 Literature references

1) M. Fryland, P. Chaillet, R. Zachariah, A. Barnaba, L. Bonte, R. Andreassen, S. Charrondière, R. Teck, O. Didakus. (2006). The Partec CyFlow Counter could provide an option for CD4+ T-cell monitoring in the context of scaling-up antiretroviral treatment at the district level in Malawi. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 100(10),980-5

2) J. Zienah, G. Kadzangra, S. Mazima, M. Borok, C. Mudwa, O. Tobaiva, M. Mucuche, S. Rusakaniko, D. Kateremba. (2006). Affordable flow cytometry for enumeration of CD4+ T lymphocytes to identify sub-type C-HIV infected adults requiring antiretroviral therapy (ART) and monitoring response to ART in a resource-limited setting. Journal of Translational Medicine 4:33

3) H. Karcher, D. Bohning, R. Downing, S. Mashate, G. Harms. (2006). Comparison of two alternative methods for CD4+ T-cell determination (Counter manual CD4 count and CyFlow) against standard dual platform flow cytometry in Uganda. Clinical Cytometry, 70B (3):163-69

4) S. Kohreandum, S. Detraira. (2012). Evaluation of the Partec Single-Platform Volumetric CyFlow® Counter System for Determining Percentage and Absolute Numbers of CD4 T Lymphocytes in HIV/AIDS Thai Patients. Thai AIDS J. 25:1-10

5) D. Wade, P.A. Diaw, G. Daneau, M. Camara, T.N. Dyeie, S. Mboup, L. Kestens. (2013). CD4 T-Cell Enumeration in a Field Setting: Evaluation of CyFlow Counter Using the CD4 Easy Count Kit-Dry and Pima CD4 Systems. PLoS ONE, 8(9): e75484

18 Contact of manufacturer

Manufacturer: Sysmex Partec GmbH

Amtdstraße 11 a-b, 02826 Görzitz, Germany

Tel +49 3581 8746 0, Fax +49 3581 8746 70, E-mail: info@sysmex-partec.com

19 Version number of IFU and date of issue

Revision: Rev-008\_05-04-2022\_CN 2452

Issued by: Sysmex Partec GmbH

Safety Data Sheet for this product is available at www.sysmex-partec.com/services.

Cy and CyDe are trademarks of GE Healthcare.

Identifikation des IVD-Reagens

Produktname: CD4% easy count kit

Content:	REF 05-8405
Ampulle mit CD4 mAb PE	REF 05-8405-01
Ampulle mit CD45 mAb PE-Cy5	REF 05-8405-02
Flasche mit Puffer 1	REF 05-8405-03
Flasche mit Puffer 2	REF 05-8405-04

1 Spezifikation	Humanes CD4	Humanes CD45
Spezifität	IgG1	IgG1
Isotyp	100 Tests	100 Tests
Inhalt	PE	PE-Cy5
Fluorochrom	532/488	532/488
Excitation (nm)	578	670
Emissionsmaximum (nm)		

2 Zweckbestimmung

[VD] In-Vitro-Diagnostikum

Das CD4% easy count kit ist ein manueller, quantitativer 4-Komponenten-In-vitro-Test für die Markierung von Leukozyten und einer Lymphozyten-Untergruppe in EDTA-Vollblutproben von Erwachsenen, die anschließend mit dem Sysmex Partec IVD-Flowzytometer CyFlow™ Counter ausgezählt werden können. Die Konzentration der CD4-positiven T-Helferzellen sowie der Anteil der CD4-Helferzellen an den Lymphozyten (CD4%) in Blutproben sind in Verbindung mit anderen Laborwerten und klinischen Befunden nützliche Indikatoren für die Einleitung der Behandlung HIV-positiver Patienten und die Nachsorge.

Der Test ist nur von geschulten medizinischen Fachkräften durchzuführen.

3 Prinzip des Untersuchungsergebnisses

Ein Aliquot einer EDTA-Vollblutprobe wird mit zwei Antikörpern gemischt (CD4 und CD45), wobei jeder mit einem anderen Fluorochrom zur Markierung von spezifischen Zellpopulationen konjugiert ist. Nach einer bestimmten Inkubationszeit wird die Probe mit einem Pufferlösungsmittel verdünnt und in einem Flowzytometer analysiert. Die Lichtquelle regt den Fluoreszenzfarbstoff an, der mit der gefärbten Zelle verbunden ist, und das emittierte Licht wird detektiert, während ein genaues Volumen der Blutprobe durch das Instrument läuft. Die Konzentration der spezifischen Zellpopulationen wird von der integrierten Software berechnet.

15 Interpretation der Ergebnisse

Human Immunodeficiency Virus (HIV) ist einer der Hauptgründe für die CD4-Zelldepletion, die das Immunsystem schwächt. Die Ergebnisse sollten von Ärzten in Verbindung mit lokal anwendbaren HIV-Behandlungsempfehlungen interpretiert werden.

15.1 Spezifität

Das Antikörper-MEM-241 erkennt das CD4-Antigen, ein transmembranäres Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 55 kDa, das auf einer Untergruppe von T-Lymphozyten (T-Helferzellen) exprimiert wird, sowie auf Monozyten, Gewebesmakrophagen und Granulozyten. HCM (ehemals HLA VIII) Meeting, Mai 2006, Québec, Kanada; W5 Code M241

Das Antikörper-MEM-28 reagiert mit allen Isoformen des humanen CD45-Antigens (Leukozyten Common Antigen), ein transmembranäres Typ-I-Einzelkettenprotein mit einem Molekulargewicht von 180-220 kDa, das in hohem Maße auf allen Zellen des hämatopoetischen Ursprungs, mit Ausnahme von Erythrozyten und Thrombozyten, exprimiert wird. HLA III; W5 Code NL 833a

15.2 Nachweisfähigkeit

Das Antikörper-MEM-28 reagiert mit allen Isoformen des humanen CD45-Antigens (Leukozyten Common Antigen), ein transmembranäres Typ-I-Einzelkettenprotein mit einem Molekulargewicht von 180-220 kDa, das in hohem Maße auf allen Zellen des hämatopoetischen Ursprungs, mit Ausnahme von Erythrozyten und Thrombozyten, exprimiert wird. HLA III; W5 Code NL 833a

15.3 Reproduzierbarkeit

Intra- und Inter-Assay-Variation: Die CV-Werte für CD4-Werte ≥ 200 CD4-T-Zellen/µl liegen unter 10%. Die CV-Werte für CD4-Werte < 200 CD4-T-Zellen/µl liegen unter 15%. Die Werte der Standardabweichung (SD) sind 2,5% für CD4% Werte liegen unter 25%.

15.4 Linearität

Der Messbereich des Assay und die Linearität der Messungen gelten für den folgenden Bereich: Absolute CD4 Wert: 40-2500 CD4 T-Zellen/µl

CD4%: 4 - 60%

15.5 Richtigkeit

EDTA-Vollblutproben wurden mit dem CD4% easy count kit markiert und im CyFlow™ Counter (CyView™ 2.11) analysiert. Die absoluten CD4-Werte und die CD4%-Werte wurden mit Ergebnissen eines BD FACSCalibur unter Verwendung von BD Tristest CD3/CD4/CD45 und BD Trucount-Röhrchen verglichen. Es zeigte sich eine Abweichung von -22,56% (CD4-absolut) und +2,1% (CD4%) zwischen den Methoden.

16 Grenzen des Verfahrens

CAUTION: Die Sysmex Partec CD4% easy count kits (05-8405) wurden nicht für die Verwendung bei Kindern und Jugendlichen validiert.

CAUTION: Patientmessungen von CD4 und CD4% mithilfe von Sysmex Partec Assays sollten nicht zusammen mit Methoden anderer Hersteller zur Bestimmung von CD4 und CD4% verwendet werden. Verwenden Sie die Assays nur mit Sysmex Partec Geräten. Werten, die mit anderen Geräten oder Assays erhalten wurden, sind nicht austauschbar.

Verschiedene endogene und exogene Substanzen wurden in Übereinstimmung mit der Richtlinie CLSI EP07-A2 auf mögliche Beeinträchtigung der Blutprobenanalyse untersucht. Bei ≥ 18% Hämolyse (gemäß dem in der Richtlinie CLSI EP07-A2, Anhang G empfohlenen Verfahren G1 „Osmotic Shock Procedure“ induziert) wurde eine Beeinträchtigung beobachtet. Aus diesem Grund sollten hämolytische Proben verworfen werden. Für die Bestimmung von CD4 und CD4% in Vollblutproben mit CyFlow™ Counter Assays sollte kein anderes Antikoagulum als EDTA verwendet werden. Bei weiteren Fragen hinsichtlich des Leistung des Produkts wenden Sie sich bitte an Ihre nächstgelegene Sysmex-Vertretung.

17 Literatur

1) M. Fryland, P. Chaillet, R. Zachariah, A. Barnaba, L. Bonte, R. Andreassen, S. Charrondière, R. Teck, O. Didakus. (2006). The Partec CyFlow Counter could provide an option for CD4+ T-cell monitoring in the context of scaling-up antiretroviral treatment at the district level in Malawi. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 100(10),980-5

2) J. Zienah, G. Kadzangra, S. Mazima, M. Borok, C. Mudwa, O. Tobaiva, M. Mucuche, S. Rusakaniko, D. Kateremba. (2006). Affordable flow cytometry for enumeration of CD4+ T lymphocytes to identify sub-type C-HIV infected adults requiring antiretroviral therapy (ART) and monitoring response to ART in a resource-limited setting. Journal of Translational Medicine 4:33

3) H. Karcher, D. Bohning, R. Downing, S. Mashate, G. Harms. (2006). Comparison of two alternative methods for CD4+ T-cell determination (Counter manual CD4 count and CyFlow) against standard dual platform flow cytometry in Uganda. Clinical Cytometry, 70B (3):163-69

4) S. Kohreandum, S. Detraira. (2012). Evaluation of the Partec Single-Platform Volumetric CyFlow® Counter System for Determining Percentage and Absolute Numbers of CD4 T Lymphocytes in HIV/AIDS Thai Patients. Thai AIDS J. 25:1-10

5) D. Wade, P.A. Diaw, G. Daneau, M. Camara, T.N. Dyeie, S. Mboup, L. Kestens. (2013). CD4 T-Cell Enumeration in a Field Setting: Evaluation of CyFlow Counter Using the CD4 Easy Count Kit-Dry and Pima CD4 Systems. PLoS ONE, 8(9): e75484

18 Kontaktinformationen des Herstellers

Hersteller: Sysmex Partec GmbH

Amtdstraße 11 a-b, 02826 Görzitz, Deutschland

Tel +49 3581 8746 0, Fax +49 3581 8746 70, E-mail: info@sysmex-partec.com

19 Versionsnummer des Benutzerhandbuchs und Ausgabedatum

Revision: Rev-008\_05-04-2022\_CN 2452

Ausgegeben von: Sysmex Partec GmbH

Das Sicherheitsdatenblatt zu diesem Produkt ist unter www.sysmex-partec.com/services erhältlich.

Cy und CyDe sind Marken der GE Healthcare.

11.1 Markierung

Die Blutprobe im EDTA-Blutnährenröhrchen 8 - 10 mal vorsichtig umdrehen.

20 µl EDTA-Vollblutprobe auf den Boden eines Probenröhrchens pipettieren. Dabei keine Blutspuren von der Pipettenspitze auf der Röhrcheninnenwand hinterlassen. Pipettenspitze entsorgen.

10 µl CD4 mAb PE direkt in die Blutprobe geben und vorsichtig mischen. Dabei keine Blutspuren von der Pipettenspitze auf der Röhrcheninnenwand hinterlassen. Pipettenspitze entsorgen.

Inkulieren Sie die Mischung 15 Minuten bei 15 - 30 °C im Dunkeln.

400 µl Puffer 1 hinzugeben und kurz vortexen oder das Röhrchen sanft aufklopfen, um die Probe zu mischen. Pipettenspitze entsorgen.

400 µl Puffer 2 hinzugeben und kurz vortexen oder das Röhrchen sanft aufklopfen, um die Probe zu mischen. Pipettenspitze entsorgen.

Vor der Analyse mit dem CyFlow™ Counter kurz vortexen oder das Röhrchen sanft aufklopfen.

NOTICE: Nach der Zugabe von Puffer 1 können die Proben bis zu 2 Stunden bei 2 - 8 °C im Dunkeln aufbewahrt werden. Die Probe danach nicht mehr verwenden und auch nicht, wenn sie nicht wie angegeben vorbereitet wurde.

2), on the clusters of CD4 positive cells, CD4 negative cells and monocytes in the CD4 - SSC dot plot are

• Mélangez brièvement au vortex ou tapoter doucement le tube avant d'effectuer l'analyse à l'aide du CyFlow™ Counter.  
**REMARQUE**  
Après l'ajout du tampon 1, il est possible de conserver les échantillons jusqu'à 2 heures à une température comprise entre 2 - 8 °C à l'abri de la lumière. Ne pas utiliser l'échantillon après ce délai ou s'il n'a pas été préparé de manière conforme.  
Les échantillons doivent être analysés dans un délai de 10 minutes après l'ajout du tampon 2.

**11.2 Analyse de l'échantillon**  
Pour obtenir des informations sur le fonctionnement de l'instrument avant l'analyse de l'échantillon, se reporter au guide d'utilisation du CyFlow™ Counter. Les procédures de démarrage et la procédure de contrôle qualité interne doivent avoir été effectuées avec succès avant l'analyse de l'échantillon.

- Choisissez et chargez la configuration pour la mesure CD4<sup>+</sup> dans la barre de menu de CyFlow™ Counter.
- Insérer le tube d'échantillon avec l'échantillon de sang préparé dans l'orifice d'échantillonnage.
- Démarrer la mesure.

**Numéro de version du guide d'utilisation et date de publication**

Révision: Rev-008\_05-04-2022\_CN 2452  
Publiée par: Sysmex Partec GmbH

La fiche de données de sécurité de ce produit est disponible à l'adresse suivante : [www.sysmex-partec.com/services](http://www.sysmex-partec.com/services).  
Cy et CyDye sont des marques déposées de GE Healthcare.



LILIANA E. PARODI  
FARMACEUTICA  
MAJ. 9357



EZEQUIEL BOEZIO  
SOCIO-GERENTE

**Identificación del reactivo para DIV**  
**Nombre del producto:**  
**Kit CD4<sup>+</sup> easy count** REF 05-8405

**Contenido:**  
 Vial con CD4 mAb PE REF 05-8405-01  
 Vial con CD45 mAb PE-Cy5 REF 05-8405-02  
 Botella con solución amortiguadora 1 REF 05-8405-03  
 Botella con solución amortiguadora 2 REF 05-8405-04

Especificidad	CD4 humano	CD45 humano
Isotipo	IgG1	IgG1
Contenido	100 tests	100 tests
Fluorocromo	PE	PE-Cy5
λ de excitación (nm)	532/488	532/488
Emisión máxima (nm)	578	670

**2 Uso previsto**  
 [RD] Para diagnóstico in vitro.  
 El kit CD4<sup>+</sup> easy count les es útil cuantitativo manual de DIV de cuatro componentes para el marcaje de leucocitos y una subpoblación de linfocitos en sangre entera venosa adulta con EDTA, que pueden a continuación enumerarse con el citómetro de flujo para DIV CyFlow™ Counter de Sysmex Partec. La concentración de linfocitos T CD4<sup>+</sup> y el CD4% de linfocitos de las muestras de sangre son indicadores útil para iniciar o supervisar el tratamiento de personas infectadas por el VIH junto con otros hallazgos clínicos y de laboratorio.

El test está previsto para su uso por parte de profesionales sanitarios con la formación correspondiente.  
**Principio del método de análisis**  
 Se mezcla una cantidad equivalente de una muestra de sangre entera con EDTA con dos anticuerpos (CD4 y CD45), cada uno conjugado con un fluorocromo diferente para marcar poblaciones celulares específicas. Tras un tiempo fijo de incubación, se añaden las dos soluciones amortiguadoras y la muestra está lista para su análisis en el citómetro de flujo CyFlow™ Counter. La fuente de luz excita el tinte fluorescente vinculado

con la célula teñida y la luz emitida se detecta mientras un volumen preciso de muestra de sangre pasa por el instrumento. La concentración de poblaciones celulares específicas se calcula en el software integrado. Para más información, consulte las instrucciones de uso de CyFlow™ Counter.

**4 Almacenamiento y tiempo de conservación tras abrir por primera vez**  
 1. Almacenamiento:  
 Almacene los reactivos de anticuerpos y solución amortiguadora en un lugar oscuro a 2 - 8 °C. No congele ni exponga los reactivos a temperaturas elevadas o a la luz solar directa.  
 2. Tiempo de conservación tras abrir por primera vez:  
 Cierre siempre la botella después de usar y utilice puntas de pipeta nuevas cada vez que tome muestras del reactivo para evitar la contaminación.  
 En estas condiciones de almacenamiento, el kit CD4<sup>+</sup> easy count permanecerá estable hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del kit.  
**5 Componentes**  
 mAb CD4-PE y mAb CD45-PE-Cy5 son anticuerpos monoclonales murinos suministrados en una solución amortiguadora PBS con un 0,2% de SAB y un 0,09% de azida de sodio. Las soluciones amortiguadoras 1 y 2 son soluciones control base de PBS que contienen un 0,09% de azida de sodio.  
**6 Indicadores de control**  
 El reactivo de anticuerpos y la solución amortiguadora son líquidos transparentes. No utilice el reactivo si aparece cualquier tipo de turbidez o contaminación. Si tiene alguna pregunta con respecto al funcionamiento o la calidad del producto, contacte con su representante local Sysmex y solicite asistencia técnica.  
**7 Precisión y advertencias**  
 Los reactivos contienen 14 mL de azida de sodio como conservante. Dada su resistencia concentración de azida de sodio, no requiere un etiquetado como producto de riesgo, pero se deben observar las precauciones de seguridad necesarias para la manipulación de sustancias químicas. Consulte la ficha técnica de seguridad para obtener más información y precauciones.  
**8 Equipamiento adicional necesario**  
 Instrumento necesario: CyFlow™ Counter (REF No.: CY-S-3022 o CY-S-3023)  
 Equipamiento requerido:  
 Tubos de ensayo de 3,5 ml (REF No.: 04-2000)  
 Una pipeta verificada de 10 µl y puntas de pipeta  
 Una pipeta verificada de 20 µl y puntas de pipeta  
 Una pipeta verificada de 100 - 1000 µl y puntas de pipeta  
 Sistema de extracción de sangre venosa con EDTA como anticoagulante  
 Cronómetro

**9 Preparación del reactivo**  
 CD4 mAb PE (REF No.: 05-8405-01), el reactivo de anticuerpos está listo para su uso.  
 CD45 mAb PE-Cy5 (REF No.: 05-8405-02), el reactivo de anticuerpos está listo para su uso.  
 Solución amortiguadora 1 (REF No.: 05-8405-03), la solución amortiguadora está lista para su uso.  
 Solución amortiguadora 2 (REF No.: 05-8405-04), la solución amortiguadora está lista para su uso.  
**10 Principios básicos de extracción, manipulación y almacenamiento de muestras**  
**Advertencias** *Todas las muestras y materiales biológicos se consideran material de riesgo biológico y deben ser manipulados como si fueran potencialmente infecciosos. Se deben observar las precauciones de seguridad y procedimientos de manipulación adecuados conforme a la legislación y normativa.*  

- La muestra de sangre debe ser una muestra de sangre entera venosa, extraída con un sistema de extracción de sangre que contenga EDTA como anticoagulante.
- La muestra de sangre debe transportarse en un contenedor oscuro, protegido de la luz y no expuesto a temperaturas elevadas. Un contenedor de transporte adecuado es, por ejemplo, una caja de poliestireno extraído con material refrigerante. Las mejores condiciones de transporte serían inferiores a 25 °C si el transporte no durará más de 6 horas después de la donación.
- La muestra de sangre debe almacenarse a 2 - 8 °C durante un máximo de 6 horas, la sangre debe mantenerse a 2 - 8 °C.
- No se puede congelar y descongelar la muestra de sangre.
- En condiciones óptimas la muestra de sangre debería ser reciente, es decir, no deberían haber pasado más de seis horas entre la extracción y el análisis de la muestra.
- Las muestras de sangre se pueden utilizar hasta 24 horas después de la extracción si se almacenan en el frigorífico a 2 - 8 °C.
- Los tubos con la muestra de sangre se deben volutar con suavidad de 8 a 10 veces antes de ser utilizados. No utilice muestras de sangre coaguladas.

**11 Procedimiento de análisis**  
**Aviso** *El pipeteado inverso es fundamental para la precisión, en particular cuando se dispensan volúmenes de muestra viscosos y muy pequeños. Para el pipeteado de sangre completa, recomendamos emplear una pipeta electrónica calibrada que esté preprogramada para funcionar en modo de pipeteado inverso. Si no hay disponible una pipeta electrónica, siga las siguientes instrucciones para llevar a cabo un pipeteado inverso manual:*  

- Presione el botón de funcionamiento hasta el segundo tope. Deje que el botón de funcionamiento ascienda por completo; la muestra sobrante se aspirará a la punta.
- Presione el botón de funcionamiento hasta el primer tope para expulsar un volumen control de sangre, dejando así la muestra sobrante dentro de la punta.
- Elimine la punta de la pipeta que contiene la muestra de sangre sobrante en un contenedor para residuos médicos.

*Tenga en cuenta que no debe utilizar el pipeteado inverso para soluciones de anticuerpos ni soluciones tampón.*

**11.1 Tinción**  

- Viótese con suavidad de 8 a 10 veces el tubo de extracción de sangre con EDTA que contiene la muestra de sangre.
- Pase con la pipeta 20 µl de la muestra de sangre entera con EDTA al fondo de un tubo de muestra y evite manchar la pared interior del tubo con la sangre de la punta de la pipeta. Descarte la punta de la pipeta.
- Añada 10 µl de mAb CD4-PE directamente en la muestra de sangre y mézclelo suavemente, evitando manchar la pared interior del tubo con la sangre de la punta de la pipeta. Descarte la punta de la pipeta.
- Añada 10 µl de mAb CD45-PE-Cy5 directamente en la muestra de sangre y mézclelo suavemente, evitando manchar la pared interior del tubo con la sangre de la punta de la pipeta. Descarte la punta de la pipeta.
- Incuba la mezcla durante 15 minutos a 15 - 20 °C en la oscuridad.
- Añada 400 µl de la solución amortiguadora 1 y agite brevemente con la agitadora vortical, o bien golpee suavemente el tubo para mezclar la muestra. Descarte la punta de la pipeta.
- Añada 400 µl de la solución amortiguadora 2 y agite brevemente con la agitadora vortical, o bien golpee suavemente el tubo para mezclar la muestra. Descarte la punta de la pipeta.
- Agite brevemente mediante agitadora vortical, o bien golpee suavemente el tubo antes del análisis con el CyFlow™ Counter.

**Aviso** *Tas añadir la solución amortiguadora 1, las muestras pueden almacenarse hasta 2 horas a 2 - 8 °C. Cuando se utiliza la muestra asado este punto o si no se ha preparado correctamente. Las muestras se deben analizar dentro de un periodo máximo de 10 minutos tras la edición de la solución amortiguadora 2.*

**11.2 Análisis de la muestra**  
 En las instrucciones de uso de CyFlow™ Counter puede consultar el modo del empleo del equipo antes de analizar la muestra. Los procedimientos de puesta en marcha y el proceso de control de calidad interno de

**Instrucciones de uso**  

- Tras el análisis de la muestra, el dispositivo se detiene y se limpia automáticamente.
- Retire y desheche la muestra de sangre conforme a los procedimientos locales de seguridad en laboratorio frente a riesgos biológicos.

 No inicie una segunda medición con el mismo tubo de muestras. Si se requiere una repetición de la medición, se debe preparar un segundo tubo de muestras conforme a 11.1.  
**11.3 Adquisición y análisis de datos**  
 El análisis de datos con CyFlow™ Counter solo es posible si el control de calidad interno del instrumento ha resultado satisfactorio. Consulte las instrucciones de uso del CyFlow™ Counter para realizar, si fuera necesario, el procedimiento de inicio y mantenimiento del dispositivo. Los resultados de contar el número de células CD4-T, el porcentaje de células CD4 y el recuento de linfocitos se presentarán en la pantalla. Si las agrupaciones de células teñidas no se pueden diferenciar claramente de las señales de ruido de fondo en

el diagrama de dispersión lateral de CD45 (véase la figura 2), o bien no se pueden diferenciar claramente las agrupaciones de células positivas para CD4, las células negativas para CD4 y los monocitos en el diagrama de dispersión lateral de CD4, entonces habrá que repetir la preparación de la muestra y la medición.

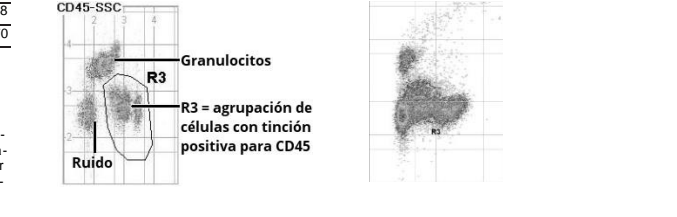


Figura 1: Ejemplo de agrupaciones bien diferenciadas de leucocitos, otros leucocitos con tinción positiva para CD45 y señales de ruido.

Los resultados serán incorrectos si el posicionamiento de la puerta de las células teñidas con CD45 positivo (R3) no se realiza con precisión.  
**12 Cálculo de los resultados del análisis**

El cálculo de la concentración celular forma parte del análisis de datos informático, el cual suministra el resultado en CD4%, células CD4+ por µl de muestra de sangre y linfocitos por µl de muestra de sangre después de cada medición.

Para más información, consulte las instrucciones de uso de CyFlow™ Counter.  
**13 Interpretación de los resultados**  
 El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es uno de los principales motivos del agotamiento de las células CD4, que debilita el sistema inmunitario. Los resultados deben ser interpretados por los médicos, en conjunción con las pautas de tratamiento del VIH aplicables localmente.  
**14 Procedimiento de control**  
 Se debe realizar un control de calidad apropiado conforme a las normativas locales y nacionales. Se han comercializado diversas muestras de sangre estandarizadas, pero solo unas pocas son adecuadas cuando se utilizan determinados citómetros de flujo. Si no se cumple el criterio de aceptación del material de control específico, no prosiga con el análisis de la muestra del paciente y póngase en contacto con su representante local Sysmex.  
 Para más información sobre el uso de material de control adecuado, póngase en contacto con su representante local de Sysmex.  
 El anticuerpo MEM-241 reconoce el antígeno CD4, una glicoproteína transmembrana de 55 kDa expresada en un subconjunto de linfocitos T (células T auxiliares) y también en monocitos, macrófagos y granulocitos. Congreso de HCDM (anteriormente H.LDA VIII), mayo de 2006, Quebec, Canadá; Código WS: M241.  
 El anticuerpo MEM-28 reacciona con todas las formas alternativas de antígeno humano CD45 (antígeno leucocitario común), una proteína transmembrana tipo 1 monoclonarizada de 180-220 kDa con elevada concentración en todas las células de origen hematopoyético, excepto los eritrocitos y las plaquetas. H.LDA III, Código WS: NL\_833a.  
**15.2 Capacidad de detección**  
 La evaluación del límite de inclusión (LI), el límite de detección (LoD) y el límite de cuantificación (LC) se realizó de acuerdo con las indicaciones de la directriz CLSI EP17-A2.  
 LI: <50% del LD  
 LD: >20 células CD4/µl  
 LC: >40 células CD4/µl  
**15.3 Repetibilidad**  
 Variación intra e interanalítica:  
 Los valores de coeficiente de variación (CV) suponen menos del 10% para valores de CD4 + 200 células T CD4/µl.  
 Los valores de coeficiente de variación (CV) suponen menos del 10% para valores de CD4% a 25%.  
 Los valores de coeficiente de variación (CV) suponen menos del 15% para valores absolutos de CD4 inferiores a 200 células T CD4/µl.  
 Los valores de desviación estándar (SD) <±2,5% para valores de CD4% inferiores al 25%.  
**15.4 Linealidad**  
 El intervalo de medición del ensayo y la linealidad de la medición son válidos en el intervalo:  
 CD4 absoluto: 40-2500 células T CD4/µl  
 CD4%: 4 - 60%  
**15.5 Concordancia**  
 Las muestras de sangre entera con EDTA se tificaron con el kit CD4<sup>+</sup> easy count y se analizaron en el CyFlow™ Counter (CyView™ 2.11). Se compararon los valores de CD4 absoluto y CD4% con los resultados de un BD FACScanibur utilizando BD Tristest CD3/CD4/CD45 y tubos BD Trucount y se puso de manifiesto una divergencia del -22,56% (CD4 absoluto) y del +2,1% (CD4%) entre ambos métodos.  
**16 Limitaciones**  
**CIUDADO** *El uso de los kits de Sysmex Partec CD4% easy count (05-8405) no está validado para pacientes pediátricos y adolescentes.*  
**CIUDADO** *Las mediciones de los pacientes de CD4 y CD4% realizadas con los ensayos de Sysmex Partec no deben utilizarse junto con las medidas obtenidas de otros métodos del fabricante para determinar CD4 y CD4%. Use los ensayos solo con los instrumentos de Sysmex Partec. Los valores obtenidos usando otros equipos o ensayos no son intercambiables.*  
 Se analizaron diferentes sustancias endógenas y exógenas conforme a la directriz CLSI EP07-A2 para detectar posibles efectos de interferencia que pudieran influir en el análisis de la muestra de sangre. Finalmente, se observó un 18% de hemólisis (provocada por el uso del protocolo recomendado en CLSI EP07-A2, apéndice G, G1. «Procedimiento de choque osmótico») como muestra de un efecto de interferencia. Para este motivo, se deben reazar las muestras hemolizadas. Para la determinación de CD4 y CD4% en muestras de sangre total con los ensayos CyFlow™ Counter, no se debe utilizar ningún otro anticoagulante que el EDTA.  
 Si tiene alguna pregunta más con respecto al funcionamiento del producto, póngase en contacto con su representante local de Sysmex Partec GmbH.  
**17 Referencias bibliográficas**  
 1) M. Fryland, P. Chaillet, R. Zachariah, A. Barnaba, L. Bonte, R. Andreassens, S. Charroindière, R. Teck, O. Didakou. (2006). The Partec CyFlow Counter® could provide an option for CD4+ T-cell monitoring in the context of scaling-up antiretroviral treatment at the district level in Malawi. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 100(10):980-5.  
 2) L. Zijenah, G. Kadzange, S. Madzime, M. Borok, C. Muduva, O. Tobaiwa, M. Mucheche, S. Rusakaniko, D. Katzenstein. (2006). Affordable flow cytometry for enumeration of absolute CD4+ T-lymphocytes to identify HIV-1 infected adults requiring antiretroviral therapy (ART) and monitoring response to ART in a resource-limited setting. Journal of Translational Medicine, 4:33.  
 3) H. Karcher, D. Bohring, R. Downing, S. Mashate, G. Harms. (2006). Comparison of two alternative methods for CD4+ T-cell determination (Coulter manual CD4 count and CyFlow) against standard dual platform flow cytometry in Uganda. Clinical Cytometry, 70B (3):163-69.  
 4) S. Kohreansudom, S. Dettraira. (2012). Evaluation of the Partec Single-Platform Volumetric CyFlow® Counter System for Determining Percentage and Absolute Numbers of CD4 T Lymphocytes in HIV/AIDS Thai Patients. Thai AIDS, 25:1-10.  
 5) D. Wade, P. A. Diaw, G. Daneau, M. Camara, T. N. Dieye, S. Mboup, L. Kestens. (2013). CD4 T-Cell Enumeration in a Field Setting: Evaluation of CyFlow Counter Using the CD4 Easy Count Kit-Dry and Pima CD4 Systems. PLoS ONE, 8(9): e75484

**18 Contacto del fabricante**  
 Fabricante:  
 Sysmex Partec GmbH  
 Amsterdams 11 a-b  
 22825 Górtitz, Alemania  
 www.sysmex-partec.com  
 Tel +49 3581 8746 0  
 Fax +49 3581 8746 70  
 E-mail: info@sysmex-partec.com

**19 Número de versión de las instrucciones de uso y fecha de publicación**  
 ben completarse con éxito antes de iniciar el análisis de la muestra.  

- Elija y guarde la configuración para la medición de CD4%, desde la barra de menú de CyFlow™ Counter.
- Inserte el tubo de muestras con la muestra de sangre preparada en el acoplamiento para muestras.

**Identificação do reagente IVD**  
**Nome do produto:**  
**CD4<sup>+</sup> easy count kit** REF 05-8405

**Conteúdo:**  
 Recipiente contendo CD4 mAb PE REF 05-8405-01  
 Recipiente contendo CD45 mAb PE-Cy5 REF 05-8405-02  
 Frasco contendo Tampão 1 REF 05-8405-03  
 Frasco contendo Tampão 2 REF 05-8405-04

Especificidade	CD4 humano	CD45 humano
Isótipo	IgG1	IgG1
Conteúdo	100 testes	100 testes
Fluorocromo	PE	PE-Cy5
λ de excitação (nm)	532/488	532/488
Máximo de emissão (nm)	578	670

**2 Uso previsto**  
 [IVD] Para uso no diagnóstico in vitro.  
 O CD4<sup>+</sup> easy count kit é um teste IVD manual quantitativo com quatro componentes, para a marcação de leucócitos e de uma subpopulação de linfócitos em sangue total EDTA venoso de adulto, que podem ser posteriormente enumerados no citômetro de fluxo IVD Sysmex Partec CyFlow™ Counter.  
 A concentração de células CD4 T e CD4% de linfócitos em amostras de sangue são indicadores útil para o diagnóstico ou acompanhamento do tratamento para pacientes vom VIH positivo em conjugação com outros resultados laboratoriais e clínicos.

O teste destina-se a ser realizado por profissionais de saúde devidamente qualificados.  
**3 Princípio do método de análise**  
 Uma alíquota de uma amostra de sangue total EDTA é misturada com dois anticorpos (CD4 e CD45), cada um deles conjugado com um fluorocromo diferente para marcar populações de células específicas. Após um tempo de incubação fixo, as duas soluções tampão são adicionadas e a amostra fica pronta para análise no citômetro de fluxo CyFlow™ Counter.

A fonte de luz excita o corante fluorescente ligado à célula corada e a luz emitida é detectada enquanto um volume preciso de amostra de sangue passa pelo instrumento. A concentração das populações de células específicas é calculada pelo software integrado.

Para mais informações, consulte as instruções de utilização do CyFlow™ Counter.  
**4 Armazenamento e prazo de validade após a primeira abertura**  
 1. Armazenamento:  
 Armazene os reagentes tampão e de anticorpos entre 2 - 8 °C no escuro. Não congele nem exponha os reagentes a temperaturas elevadas ou mantenha-os protegidos da luz solar direta.  
 2. Prazo de validade após a primeira abertura:  
 Feche sempre o frasco após a utilização e utilize pontas de pipeta novas de cada vez que o reagente é amostrado, para evitar a contaminação.  
 Sob estas condições de armazenamento, o CD4<sup>+</sup> easy count kit irá permanecer estável até à data de validade impressa no rótulo do kit.  
**5 Componentes**  
 O CD4 mAb PE e o CD45 mAb PE-Cy5 são anticorpos monoclonais murinos fornecidos em tampão PBS com 0,2% de BSA e 0,09% de azida de sódio. Anticópo 1 e tampão 2 são soluções baseadas em PBS control base de azida de sódio.  
**6 Índice de deterioração**  
 As soluções tampão e de anticorpos são líquidos transparentes. Não utilize os reagentes caso surja qualquer tipo de turbidez ou contaminação.  
 Se não estiver satisfeito com a estabilidade periódica, mas é necessário respeitar as precauções de segurança locais de Sysmex.  
 Para mais informações sobre o uso de material de controlo adequado, entre em contacto com o representante local da Sysmex para obter suporte técnico.  
**7 Precauções e advertências**  
 Os reagentes contêm 14 mL de azida de sódio como conservante. A baixa concentração de azida de sódio não exige a rotulagem com substância perigosa, mas é necessário respeitar as precauções de segurança locais de Sysmex.  
 Para mais informações sobre o uso de material de controlo adequado, entre em contacto com o seu representante local da Sysmex.  
**8 Additional required equipment**  
 Instrumento necessário: CyFlow™ Counter (REF No.: CY-S-3022 ou CY-S-3023)  
 Equipamento necessário:  
 Tubos de amostra de 3,5 ml (REF No.: 04-2000)  
 Uma pipeta verificada de 10 µl e pontas de pipetaUma  
 pipeta verificada de 20 µl e pontas de pipeta  
 Uma pipeta verificada de 100 - 1000 µl e pontas de pipeta  
 Sistema de coleta de sangue venoso com EDTA como anti-coagulante  
 Cronômetro

**9 Preparação do reagente**  
 CD4 mAb PE (REF No.: 05-8405-01), o reagente de anticorpos está pronto a usar.  
 CD45 mAb PE-Cy5 (REF No.: 05-8405-02), o reagente de anticorpos está pronto a usar.  
 Tampão 1 (REF No.: 05-8405-03), a solução tampão está pronta a usar.  
 Tampão 2 (REF No.: 05-8405-04). A solução tampão está pronta a usar.  
**10 Coleta, manuseamento e armazenamento da amostra principal**  
**ADVERTÊNCIA** *Todas as amostras biológicas e materiais são considerados como perigosos e devem ser manuseados como sendo capazes de transmitir infecções. É necessário aplicar precauções de segurança e procedimentos de manuseamento adequados em conformidade com as leis e regulamentos aplicáveis.*  

- A amostra de sangue tem de ser uma amostra de sangue total venoso, recolhida com um sistema de coleta de sangue, que contém EDTA como anticoagulante.
- A amostra de sangue tem de ser transportada num recipiente escuro, protegida da luz e não exposta a temperaturas elevadas. Um recipiente de transporte adequado é, p. ex., uma caixa de espuma de poliestireno com material de refrigeração. As melhores condições de transporte seriam inferiores a 25 °C se o transporte não durar mais de 6 horas após a doação.
- Para transporte e a armazenar superior a 6 horas, o sangue deve ser mantido a 2 - 8 °C.
- Não congele e descongele a amostra de sangue.
- A fim de assegurar as melhores condições, a amostra de sangue deve ser fresca, ou seja, o tempo de coleta e análise da mesma não pode ser superior a seis horas.
- As amostras de sangue podem ser utilizadas até 24 horas após a coleta, desde que tenham sido armazenadas no frigorífico entre 2 - 8 °C.
- Antes da utilização, os tubos de amostra que contém o sangue devem ser invertidos cuidadosamente 8 - 10 vezes.
- Não utilize amostras de sangue coaguladas.

**11 Procedimento de análise**  
**NOTA** *A pipetagem reversa é fundamental para a precisão, sobretudo ao dispensar volúmenes de amostra viscosos e muito reduzidos. Para a pipetagem de sangue total, recomendamos utilizar uma pipeta eletrônica calibrada para operar em modo de pipetagem reversa. Se não estiver disponível uma pipeta eletrônica, seguir estas instruções para a pipetagem reversa manual:*  

- Pressione o botão de operação até ao segundo tope de retenção. Deixe o bôlbo de operação subir completamente, o excesso da amostra é aspirado para a ponta.
- Pressione o botão de operação até ao primeiro tope de retenção para expulsar um volume exato de sangue, deixando o excesso da amostra na ponta.
- Deixe a ponta de pipeta com a amostra de sangue em excesso no contentor de lixo hospitalar.

*Ter em atenção que a pipetagem reversa não pode ser usada para anticorpos ou soluções tampão.*

**11.1 Coloração**  

- Inverta cuidadosamente a amostra de sangue no tubo de coleta de sangue EDTA 8 - 10 vezes.
- Inverta o tubo de amostra de sangue total EDTA ao fundo de um tubo de amostra, evitando deixar um rasto de sangue na parede interior do tubo com a ponta de pipeta. Descarte a ponta da pipeta.
- Adicione 10 µl de CD4 mAb PE diretamente na amostra de sangue e misture cuidadosamente, evitando deixar um rasto de sangue na parede interior do tubo com a ponta de pipeta. Descarte a ponta da pipeta.
- Adicione 10 µl de CD45 mAb PE-Cy5 diretamente na amostra de sangue e misture cuidadosamente, evitando deixar um rasto de sangue na parede interior do tubo com a ponta de pipeta. Descarte a ponta da pipeta.

**18 Contacto do fabricante**  
 Fabricante:  
 Sysmex Partec GmbH  
 Amsterdams 11 a-b  
 02826 Górtitz, Alemanha  
 www.sysmex-partec.com  
 Tel +49 3581 8746 0  
 Fax +49 3581 8746 70  
 E-mail: info@sysmex-partec.com

**19 Número de versão de las instrucciones de uso y fecha de publicación**  
 Puede consultarse el modo de empleo del equipo antes de iniciar el análisis de este producto en www.sysmex-partec.com. Para más información, consulte las instrucciones de uso de CyFlow™ Counter.  
 Inserte el tubo de muestras con la muestra de sangre preparada en el acoplamiento para muestras.

**Instruções de utilização**  

- Insira o tubo da amostra com a amostra de sangue preparada na porta de amostragem.
- Inicie a medição.
- Após o processamento da amostra, o instrumento para e limpa-se automaticamente.
- Retire e elimine a amostra de sangue de acordo com os procedimentos de segurança locais do laboratório em termos de perigo biológico.

 Não inicie uma segunda medição com o mesmo tubo de amostra. Se for necessária uma duplicação ou repetição da medição, terá de ser preparado um segundo tubo de amostra tal como descrito em 11.1.  
**11.3 Adquisição e análise de dados**  
 O análise de dados com o CyFlow™ Counter só é possível caso o controlo de qualidade interno do instrumento tenha sido executado com êxito.  
 Consulte as instruções de utilização do CyFlow™ Counter para informações sobre o

procedimento de arranque e a manutenção do dispositivo, se necessário.  
 Os resultados da contagem do número de células CD4-T, determinando a percentagem de células CD4 e a contagem de linfócitos serão apresentados na tela. Se os aglomerados das células coradas contra os sinais de ruído de fundo no gráfico de pontos CD45 - SSC não forem claramente separáveis (ver figura 2), ou se os aglomerados de células positivas CD4, células negativas CD4 e monocitos no gráfico de pontos CD4 - SSC não forem claramente separáveis, a preparação e medição da amostra têm de ser repetidas.

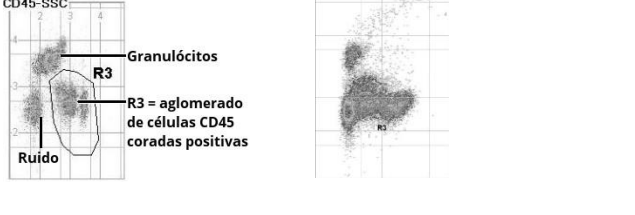


Figura 1: Exemplo de aglomerados de granulócitos bem diferenciados, outros leucócitos corados positivos CD45 e sinais de ruído.

Os resultados serão incorretos se o posicionamento da porta de células CD45 positivas (R3) não for feito com precisão.  
**12 Cálculo dos resultados da análise**

O cálculo da concentração de células faz parte da análise de dados baseada em software, que fornece o resultado em células CD4% e CD4+ por µl de amostra de sangue e linfócitos por µl de amostra de sangue, após cada medição.  
 Para mais informações, consulte as instruções de utilização do CyFlow™ Counter.  
**13 Interpretação dos resultados**  
 O vírus da imunodeficiência humana (VIH) é uma das principais razões para a depleção de células CD4, que debilita o sistema imunológico. Os resultados devem ser interpretados pelos médicos, em conjunto com as diretrizes de tratamento do VIH aplicáveis localmente.  
**14 Procedimento de controlo**  
 Deve ser realizado um controlo de qualidade apropriado de acordo com regulamentos locais e nacionais. Encontra-se disponível no mercado uma variedade de amostras de sangue estabilizadas, mas poucas são adequadas para a utilização de certos citómetros de fluxo.  
 Se não for cumprido o critério de aceitação do material de controlo individual, não avance para o teste da amostra do paciente e entre em contacto com o seu representante local da Sysmex.  
 Para mais informações acerca do uso de material de controlo adequado, entre em contacto com o seu representante local da Sysmex.  
**15 Características de desempenho**  
**15.1 Especificidade**  
 O anticorpo MEM-241 reconhece o antígeno CD4, uma glicoproteína transmembrana de 55 kDa expressa num subconjunto de linfócitos T (células T auxiliares) e também em monocitos, granulócitos e macrófagos do tecido. Conferência sobre HCDM (o anterior H.LDA VIII), maio de 2006, Quebec, Canadá; código WS M241.  
 O anticorpo MEM-28 reage com todas as formas alternativas de antígeno CD45 humano (antígeno leucocitário comum), uma proteína transmembrana tipo 1 de cadeia simples de 180-220 kDa, expressa a nível superior em todas as células de origem hematopoiética, exceto nos eritócitos e plaquetas. H.LDA III, código WS NL\_833a.  
**15.2 Capacidade de deteção**  
 A avaliação para o limite de valores em branco (LoB), Limite de deteção (LoD) e Limite de quantificação (LoQ) foi realizada de acordo com as especificações da directriz CLSI EP17-A2.  
 LoB: <50% de LoD  
 LoD: >20 células/µl  
 LoQ: >40 células/µl  
**15.3 Repetibilidade**  
 Variação intra e entre ensaios:  
 Os valores CV são inferiores a 10% para valores de CD4 de 200 células T CD4/µl ou superiores.  
 Os valores CV são inferiores a 10% para valores de CD4% de 25% ou superiores.  
 Os valores CV são inferiores a 15% para valores absolutos de CD4 inferiores a 200 células T CD4/µl.  
 Os valores do desvio padrão (SD) <±2,5% para valores de CD4% inferiores a 25%.  
**15.4 Linearidade**  
 A gama de medição do ensaio e linearidade da medição são válidas ao longo da gama:  
 CD4 absoluto: 40-2500 células T CD4/µl  
 CD4%: 4 - 60%  
**15.5 Veracidade**  
 Uma amostra de sangue total EDTA foi corada com o CD4% easy count kit e analisada no CyFlow™ Counter (CyView™ 2.11). Os valores de CD4 absoluto e CD4% foram comparados com os resultados de um BD FACScanibur usando BD Tristest CD3/CD4/CD45 e tubos BD Trucount, tendo-se revelado um desvio de -22,56% (CD4 absoluto) e +2,1% (CD4%) entre ambos os métodos.

**16 Limitações**  
**CIUDADO** *Os kits Sysmex Partec CD4% easy count (05-8405) não foram validados para utilização com pacientes pediátricos e adolescentes.*  
**CIUDADO** *As medições de paciente de CD4 e de CD4% feitas com os ensaios Sysmex Partec não devem ser usadas de forma independente com outros métodos do fabricante para determinar CD4 e CD4%. Use os ensaios apenas com os instrumentos Sysmex Partec. Os valores obtidos usando outros equipamentos ou ensaios podem não ser intercambiáveis.*  
 Foram testadas diversas substâncias endógenas e exógenas relativamente à directriz CLSI EP07-A2 para identificar possíveis efeitos de interferência que possam exercer influência sobre a análise da amostra de sangue. Finalmente, observou-se a 18% de hemólise (induzida usando o protocolo recomendado na CLSI EP07-A2, Apéndice G, G1 - Procedimento de Choque Osmótico) para demonstrar um efeito de interferência. Por esse motivo, deverão ser repetidas amostras hemolizadas. Para a determinação de CD4 e CD4% em amostras de sangue total com os ensaios CyFlow™ Counter, não se deve utilizar nenhum outro anticoagulante que o EDTA.  
 Se tiver alguma pergunta com respeito ao funcionamento do produto, entre em contacto com o seu representante local da Sysmex.  
**17 Referências bibliográficas**  
 1) M. Fryland, P. Chaillet, R. Zachariah, A. Barnaba, L. Bonte, R. Andreassens, S. Charroindière, R. Teck, O. Didakou. (2006). The Partec CyFlow Counter® could provide an option for CD4+ T-cell monitoring in the context of scaling-up antiretroviral treatment at the district level in Malawi. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 100(10):980-5.  
 2) L. Zijenah, G. Kadzange, S. Madzime, M. Borok, C. Muduva, O. Tobaiwa, M. Mucheche, S. Rusakaniko, D. Katzenstein. (2006). Affordable flow cytometry for enumeration of absolute CD4+ T-lymphocytes to identify HIV-1 infected adults requiring antiretroviral therapy (ART) and monitoring response to ART in a resource-limited setting. Journal of Translational Medicine 4:33.  
 3) H. Karcher, D. Bohring, R. Downing, S. Mashate, G. Harms. (2006). Comparison of two alternative methods for CD4+ T-cell determination (Coulter manual CD4 count and CyFlow) against standard dual platform flow cytometry in Uganda. Clinical Cytometry, 70B (3):163-69.  
 4) S. Kohreansudom, S. Dettraira. (2012). Evaluation of the Partec Single-Platform Volumetric CyFlow® Counter System for Determining Percentage and Absolute Numbers of CD4 T Lymphocytes in HIV/AIDS Thai Patients. Thai AIDS, 25:1-10.  
 5) D. Wade, P. A. Diaw, G. Daneau, M. Camara, T. N. Dieye, S. Mboup, L. Kestens. (2013). CD4 T-Cell Enumeration in a Field Setting: Evaluation of CyFlow Counter Using the CD4 Easy Count Kit-Dry and Pima CD4 Systems. PLoS ONE, 8(9): e75484

**18 Contacto do fabricante**  
 Fabricante:  
 Sysmex Partec GmbH  
 Amsterdams 11 a-b  
 02826 Górtitz, Alemanha  
 www.sysmex-partec.com  
 Tel +49 3581 8746 0  
 Fax +49 3581 8746 70  
 E-mail: info@sysmex-partec.com

**19 Número de versão de las instrucciones de uso y fecha de publicación**  
 Puede consultarse el modo de empleo del equipo antes de iniciar el análisis de este producto en www.sysmex-partec.com. Para más información, consulte las instrucciones de uso de CyFlow™ Counter.  
 Inserte el tubo de muestras con la muestra de sangre preparada en el acoplamiento para muestras.

**11.2 Análisis de la muestra**  
 Consulte las instrucciones de utilización del CyFlow™ Counter para obtener informaciones sobre como operar o instrumento antes de analizar a amostra. Os procedimentos de arranque e o procedimento interno de controlo

Используется смесь в течение 15 минут при температуре от 15 - 30 °C в темноте.  
Добавлять 400 мкл буфера 1 и встряхнуть образец или аккуратно перемешать вертикальными движениями. Отбросьте конические палочки.  
Добавлять 400 мкл буфера 2 и встряхнуть образец или аккуратно перемешать вертикальными движениями. Отбросьте конические палочки.  
Непосредственно перед анализом с помощью цитометра CyFlow™ Counter образец следует встряхнуть или аккуратно перевешать вертикальными движениями.

**ПРИМЕЧАНИЕ** После добавления буфера 1 образцы можно хранить не более 2 часов при температуре 2 - 8 °C в темном месте. Не используйте образцы, хранившиеся более длительное время или неправильно приготовленные.

• Inicie la medición.

Производитель Sysmex Partec GmbHArndtstraße 11 a-b  
02826 Götzitz, Германия  
www.sysmex-partec.com

**19 Номер редакции и дата выпуска ИЭ**  
Издание: ред:006\_05-04-2022\_CN\_2452  
Выпуск: Sysmex Partec GmbH

Tel +49 3581 8746 0  
Fax +49 3581 8746 70  
E-mail: info@sysmex-partec.com

da qualidade têm de ser concluídos com êxito antes da análise da amostra.  
• Escolha e carregue a configuração para medição de CD4% na barra de menu do CyFlow™ Counter.

  
LILIANA E. PARODI  
FARMACEUTICA  
MAJ. 9357







  
EZEQUIEL BOEZIO  
SOCIO-GERENTE

После добавления буфера 2 образцы должны быть проанализированы в течение 10 минут.

Паспорт безопасности данного продукта доступен на веб-сайте [www.sysmex-partec.com/services](http://www.sysmex-partec.com/services). Cy и CyFlow являются товарными знаками компании GE Healthcare.

## Product Labels

**Product:** CD4% easy count kit  
**Code No.:** 05-8405

Product Label	Container Type	Label Size
 <p>The label for the CD4% easy count kit kit includes the Sysmex logo, reference number REF 05-8405, lot number LOT, and a list of contents: 05-8405-01 Vial containing CD4 mAb PE, 05-8405-02 Vial containing CD45 mAb PE-Cy5, 05-8405-03 Bottle containing Buffer 1, and 05-8405-04 Bottle containing Buffer 2. It also features storage instructions for 2°C and 8°C, CE and IVD marks, the website www.sysmex-partec.com/services, and contact information for Sysmex Partec GmbH in Görlitz, Germany. A barcode with Sample EAN (01)04250878904382(17)201113(10)700103 and Lab-0112-2 is also present.</p>	cardboard box (white)	70 x 50 mm
 <p>The label for CD4 mAb PE includes the Sysmex logo, reference number REF 05-8405-01, lot number LOT 123456, and storage instructions for 2°C and 8°C. It also features CE and IVD marks, the website www.sysmex-partec.com/services, and contact information for Sysmex Partec GmbH in Görlitz, Germany. Lab-0113-2 is also indicated.</p>	3 ml glass vial (amber glass) with white PP cap	50 x 19 mm
 <p>The label for CD45 mAb PE-Cy5 includes the Sysmex logo, reference number REF 05-8405-02, lot number LOT 123456, and storage instructions for 2°C and 8°C. It also features CE and IVD marks, the website www.sysmex-partec.com/services, and contact information for Sysmex Partec GmbH in Görlitz, Germany. Lab-3503-1 is also indicated.</p>	3 ml glass vial (amber glass) with white PP cap	50 x 19 mm
 <p>The label for Buffer 1 includes the Sysmex logo, reference number REF 05-8405-03, lot number LOT, and storage instructions for 2°C and 8°C. It also features CE and IVD marks, the website www.sysmex-partec.com/services, and contact information for Sysmex Partec GmbH in Görlitz, Germany. Lab-0114-2 is also indicated.</p>	100 ml glass bottle (amber glass) with white PP cap	60 x 30 mm
 <p>The label for Buffer 2 includes the Sysmex logo, reference number REF 05-8405-04, lot number LOT, and storage instructions for 2°C and 8°C. It also features CE and IVD marks, the website www.sysmex-partec.com/services, and contact information for Sysmex Partec GmbH in Görlitz, Germany. Lab-0115-2 is also indicated.</p>	100 ml glass bottle (amber glass) with white PP cap	 <b>LILIANA E. PARODI</b> <b>FARMACEUTICA</b> <b>MAT. 9357</b>

**FABRICANTE: SYSMEX PARTEC GMBH**

**DIREC.: Armdtstrabe 11 a- b 02826**

**GORLITZ ,Alemania**

**PRODUCTO: C D 4 %**

**MARCA:SYSMEX**

**IMPORTADOR: EXSA S.R.L**

**DIRECCION: AV.ADER 3620 MUNRO**

**D.T. FARM.:PARODI LILIANA EDITH MN:9357**

**UTILIZADO POR EL M.S Y A.S., AUTORIZADO**

**POR ANMAT: PM 1489- 70**

**NO UTILIZAR SI EL ENVASE SE ENCUENTRA**

**DAÑADO O ABIERTO VENTA EXCLUSIVA A**

**PROFESIONALES E INST. SANITARIAS**

  
LILIANA E. PARODI  
FARMACEUTICA  
MAT. 9357

  
EZEQUIEL BOEZIO  
SOCIO-GERENTE



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional  
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

**Hoja Adicional de Firmas**  
**Anexo**

**Número:**

**Referencia:** EXSA S R L rótulos e instrucciones de uso

---

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 12 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE  
Date: 2023.10.31 08:46:05 -03:00

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL  
ELECTRONICA - GDE  
Date: 2023.10.31 08:46:06 -03:00





**República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional**  
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

**Certificado - Redacción libre**

**Número:**

**Referencia:** 1-0047-3110-007888-22-1

---

**CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN  
PRODUCTO MÉDICO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO**

Expediente N° 1-0047-3110-007888-22-1

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por EXSA S.R.L. ; se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de un nuevo producto con los siguientes datos identificatorios característicos:

**DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS**

Nombre Descriptivo: Anticuerpos monoclonales para Citometría de Flujo

Marca comercial: Sysmex

Modelos:

- 1) Kit CD4 easy count
- 2) Kit CD4% easy count

Indicación/es de uso:

- 1) El kit CD4 easy count es un test cuantitativo manual de DIV de dos componentes para el marcaje de

subpoblaciones de linfocitos en sangre entera venosa adulta con EDTA y la subsiguiente enumeración con el citómetro de flujo para DIV CyFlow™ Counter de Sysmex Partec. La concentración de linfocitos T CD4 de las muestras de sangre es un indicador útil para iniciar o supervisar el tratamiento de personas infectadas por el VIH junto con otros hallazgos clínicos y de laboratorio.

2) El kit CD4% easy count es un test cuantitativo manual de DIV de cuatro componentes para el marcaje de leucocitos y una subpoblación de linfocitos en sangre entera venosa adulta con EDTA, que pueden a continuación enumerarse con el citómetro de flujo para DIV CyFlow™ Counter de Sysmex Partec. La concentración de linfocitos T CD4 y el CD4% de linfocitos de las muestras de sangre son indicadores útiles para iniciar o supervisar el tratamiento de personas infectadas por el VIH junto con otros hallazgos clínicos y de laboratorio.

Forma de presentación: 1) 1 caja conteniendo 1 Vial de 3 ml y 1 Botella de 100 ml

2) 1 caja conteniendo 1 Vial de 3 ml, 1 Vial de 3 ml y 1 Botella de 100 ml

Período de vida útil: 1) y 2) Vida Util 16 meses.

1) y 2) Conservación 2° a 8° C.

Nombre del fabricante:

Sysmex Partec GmbH

Lugar de elaboración:

Arndtstraße 11 a-b

02826 Görlitz, Alemania

Grupo de Riesgo: Grupo C

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO PM 1489-70 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

Expediente N° 1-0047-3110-007888-22-1

N° Identificadorio Trámite: 44361

AM

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE

Date: 2023.11.08 23:08:55 -03:00

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL  
ELECTRONICA - GDE

Date: 2023.11.08 23:08:56 -03:00