BD OneFlow™ Chronic Lymphoproliferative Diseases Limited Panel

BD OneFlow™ LST – N.º de catálogo 658619 – 20 pruebas

BD OneFlow™ B-CLPD T1 – N.º de catálogo 659293 – 20 pruebas

23-15586(07)
2023-04
Español para América Latina

CE 2797 IVD

1. APLICACIÓN

Los tubos para trastornos linfoproliferativos crónicos (chronic lymphoproliferative diseases, CLPD) BD OneFlow™ están destinados para uso diagnóstico in vitro como un panel de anticuerpos conjugados con fluorocromos para la inmunofenotipificación cualitativa por citometría de flujo de poblaciones de linfocitos maduras en un citómetro de flujo BD con las siguientes características:

- un láser azul de 488 nm, un láser rojo de 640 nm y un laser violeta de 405 nm;
- la capacidad de detectar dispersión delantera (FSC) y dispersión lateral (SSC);
- una fluorescencia de al menos ocho colores;
- un software para la adquisición y análisis de datos.

Estos reactivos se utilizan como auxiliar para el diagnóstico diferencial de pacientes hematológicamente anormales con un diagnóstico confirmado o presunto de CLPD de células B, CLPD de células T y CLPD de células NK. Estos tubos puede utilizarse con muestras de sangre periférica y médula ósea recolectadas en tubos con EDTA o heparina y con muestras de ganglios linfáticos. Un patólogo o un profesional equivalente debe interpretar los resultados en conjunto con otros hallazgos clínicos o de laboratorio.

El BD OneFlow™ CLPD Limited Panel (Panel limitado para CLPD) incluye los siguientes tubos BD OneFlow™:

- BD OneFlow™ LST (Tubo para detección de poblaciones linfoides)
- BD OneFlow™ B-CLPD T1 (Tubo 1 para trastornos linfoproliferativos crónicos de las células B)

Estos reactivos proporcionan resultados cualitativos de varios parámetros para los antígenos incluidos en la tabla 1.

Tabla 1 Antígenos diana de los tubos BD OneFlow™ CLPD Limited Panel

	FITC	PE	PerCP-Cy5.5	PE-Cy7	APC	APC-H7	V450	V500-C
LST	CD8 e Igλ	CD56 e Igκ	CD5	CD19 y TCRγ/δ	CD3	CD38	CD20 y CD4	CD45
B-CLPD T1	CD23	CD10	CD79b	CD19	CD200	CD43	CD20	CD45

2. RESUMEN DE LA PRUEBA

En los trastornos linfoproliferativos crónicos (CLPD), los eventos clonogénicos conducen a la expansión y acumulación de linfocitos de apariencia madura, que tienen una ventaja proliferativa o de supervivencia sobre sus contrapartes normales.[1] Por lo tanto, la detección de linfocitos maduros fenotípicamente anormales y clonales es fundamental para el diagnóstico de CLPD. BD OneFlow™ LST puede distinguir células B, células T y células NK hematológicamente anormales de sus contrapartes normales.

La adquisición de muestras puede automatizarse usando el BD FACS™ Universal Loader opcional cuando se utiliza con el citómetro de flujo BD FACSLyric™. Este ensayo no es para la preparación de muestras automatizada. Pueden realizarse análisis de datos usando una plantilla predefinida e identificación secuencial. No obstante, se recomienda que el usuario revise todos los gráficos y ajuste la identificación de forma manual.

Principio de funcionamiento

Los reactivos del BD OneFlow™ CLPD Limited Panel están compuestos por anticuerpos monoclonales, cada uno conjugado con un fluorocromo específico. La muestra se agrega al tubo de reactivo y se incuba para permitir que cada anticuerpo monoclonal conjugado con fluorocromo del reactivo se una a un antígeno específico en la superficie de las células. Después de la incubación, se agrega BD FACS™ Lysing Solution para lisar los glóbulos rojos presentes en la muestra. Las células se adquieren con un citómetro de flujo BD usando el software del instrumento. Durante la adquisición, las células se desplazan más allá del haz láser y dispersan la luz láser. Las células teñidas presentan fluorescencia. Estas señales de dispersión y fluorescencia, detectadas por el instrumento, proporcionan información sobre el tamaño, la complejidad interna y la intensidad fluorescente relativa de las células. Se utiliza el software del instrumento para analizar los datos e informar el resultado.

3. REACTIVO

Composición de los reactivos

Los reactivos están compuestos de un solo uso que contienen los siguientes anticuerpos conjugados con fluorocromos en una formulación seca optimizada. Todos los anticuerpos tienen cadenas pesadas y cadenas ligeras kappa de IgG_1, con excepción de CD5, que tiene cadenas pesadas y cadenas ligeras kappa de IgG_{2a}. Los nombres de los clones de los anticuerpos se indican en la siguiente tabla en la fila ubicada debajo del anticuerpo correspondiente.

Tabla 2 Composición de anticuerpos de BD OneFlow™ LST y BD OneFlow™ B-CLPD T1

Reactivo	FITC	PE	PerCP-Cy5.5	PE-Cy7	APC	APC-H7	V450	V500-C
LST	CD8	CD56	CD5	CD19	CD3	CD38	CD4	CD45
	SK1[2]	MY31[3,4]	L17F12[5,6]	SJ25-C1[7,8]	SK7[6]	HB7[7]	SK3[2]	2D1[9,10]
	Anti-Lambda	Anti-Kappa	–	Anti-TCRγ/δ-1	–	–	CD20	–
	1-155-2[11]	TB28-2[11]	–	11F2[12,13]	–	–	L27[7]	–
B-CLPD T1	CD23	CD10	CD79b	CD19	CD200	CD43	CD20	CD45
	EBVCS-5 [8,14]	HI10a[15]	SN8[16]	SJ25-C1	MRC OX-104[17,18]	1G10[19]	L27	2D1
BD Horizon™ V450, BD Horizon™ V500-C								

Los anticuerpos de BD OneFlow™ LST se escogieron por su capacidad de separar los linfocitos normales en sus principales subpoblaciones y de distinguir las células B, las células T y las células NK hematológicamente anormales de sus contrapartes normales.

Los anticuerpos de BD OneFlow™ B-CLPD T1 se escogieron para que actúen en conjunto con los anticuerpos de BD OneFlow™ LST con el fin de que se pueda distinguir entre la CCL y otros trastornos linfoproliferativos crónicos de las células B en las muestras de pacientes.

Consulte el artículo que describe los paneles de anticuerpos EuroFlow[1] para obtener una descripción completa de la utilidad de los anticuerpos elegidos para los reactivos.

Precauciones

- Los reactivos contienen 0,70 % de 2-metil-4-isotiazolin-3-ona (número CAS 2682-20-4, número EC 220-239-6). Estos reactivos se clasifican como peligrosos según el Sistema Global Armonizado (Globally Harmonized System, GHS) de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos y el Reglamento (EC) n.º 1272/2008. Vaya a regdocs.bd.com/regdocs/sdsSearch para descargar la Ficha de datos de seguridad.

	Advertencia
	H317: puede provocar una reacción alérgica en la piel. H412: nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.
Prevención	P261: evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. P272: las ropas de trabajo contaminadas no deben estar permitidas fuera del lugar de trabajo. P280: llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P273: evitar su liberación al medio ambiente.
Respuesta	P302+P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: lavar con abundante agua y jabón. P333+P313: en caso de irritación o erupción cutánea: consultar a un médico. P362+P364: quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.
Eliminación	P501: desechar el contenido/contenedor en instalaciones aprobadas, de conformidad con la normativa local, regional, nacional e internacional.

Almacenamiento y manipulación

- Almacene los tubos a una temperatura de 2–27 °C en la bolsa de papel de aluminio.
- No congele el reactivo ni lo exponga a la luz directa en ningún momento durante el almacenamiento ni durante la incubación con células.
- Cuando se almacenan según las indicaciones, los anticuerpos secos conjugados con fluorocromos son estables hasta la fecha de caducidad que se indica en las etiquetas de la bolsa y del tubo. No los utilice después de la fecha de caducidad.
- Una vez abierta la bolsa, los anticuerpos secos conjugados con fluorocromos se mantienen estables durante un mes, siempre que se almacenen según las indicaciones.

  PRECAUCIÓN Asegúrese de que se vuelva a sellar completamente la bolsa después de sacar un tubo. El reactivo es muy sensible a la humedad. No retire el desecante de la bolsa del reactivo.

4. INSTRUMENTOS

Los sistemas de BD recomendados se indican en la tabla incluida a continuación. Para obtener más detalles, consulte la documentación para el usuario del reactivo o instrumento correspondiente.

Tabla 3 Sistemas BD recomendados

Citómetro de flujo	Esferas de configuración	Software de configuración	Software de análisis
BD FACSLyric™[a]	BD® CS&T Beads BD® FC Beads 7-Color Kit BD® FC Beads 5-Color Kit BD® FC Beads 2-Color Kit (instrumento de 12 colores)	Aplicación BD FACSuite™ Clinical versión 1.4 o posterior[b]	Aplicación BD FACSuite™ Clinical versión 1.4 o posterior
BD FACSCanto™ II[c]	BD FACSDiva™ CS&T IVD Beads BD OneFlow™ Setup Beads BD® FC Beads 8-Color Kit para ensayos BD OneFlow™	Software BD FACSDiva™ v8.0.1 o posterior	Software BD FACSDiva™ v8.0.1 o posterior

a. 8 colores (4 azules, 2 rojos, 2 violetas), 10 colores (4 azules, 3 rojos, 3 violetas) o 12 colores (4 azules, 3 rojos, 5 violetas)

b. El Loader puede utilizarse con laBD FACSuite™ Clinical versión 1.5 o posterior de la aplicación.

c. 3 láseres, 8 colores, configuración óptica 4-2H-2V predeterminada de BD (4-2H-2V)

El BD FACS™ Universal Loader puede utilizarse con estos productos. Para obtener más información, consulte las *Instrucciones de uso del sistema BD FACSLyric™*. El Loader puede utilizarse con la aplicación BD FACSuite™ Clinical versión 1.5 o posterior.

5. RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Los reactivos pueden utilizarse para la inmunofenotipificación por citometría de flujo de sangre periférica (SP), aspirado de médula ósea (MO) o ganglios linfáticos (GL).

- Con una técnica aséptica, recolecte muestras de SP mediante venopunción en tubos de recolección de sangre con BD Vacutainer® K2 o K3 EDTA blood collection tubes, o equivalentes, o en litio o heparina sódica.[20]
- Recolecte muestras de MO en tubos de recolección de sangre con BD Vacutainer® EDTA K2 o K3 blood collection tubes, o equivalentes, o en litio o heparina sódica.
- Recoja muestras de GL en búfer fosfato salino (PBS), gasa embebida con PBS o medio de cultivo celular, como RPMI.

  Recomendamos seguir las indicaciones incluidas en los protocolos consensuados para la inmunofenotipificación por citometría de flujo de las neoplasias hematopoyéticas.[21,22]

- Las muestras de SP y MO se deben procesar en un plazo de hasta 24 horas después de su recolección.

  Las muestras con un gran número de células no viables pueden producir resultados erróneos debido a la pérdida selectiva de poblaciones y al aumento de la unión no específica de anticuerpos a las células no viables. Se debe valorar la viabilidad de las muestras. Se recomienda una viabilidad mínima del 75 %.[23]

- Las muestras deben obtenerse en un plazo de 60 minutos después de la tinción si se conservan a temperatura ambiente y protegidas de la luz.

ADVERTENCIA Todas las muestras y materiales biológicos que entren en contacto con ellas se consideran materiales biológicos peligrosos. Deben manejarse como si fueran capaces de transmitir infecciones [24,25] y desecharse respetando las precauciones correspondientes, de conformidad con la normativa federal, estatal y local. Nunca debe pipetear con la boca. Utilice ropa, lentes y guantes de protección adecuados.

Condiciones interferentes

Las sustancias presentes en la muestra podrían interferir con el ensayo:

- El uso de anticuerpos monoclonales terapéuticos en el tratamiento de pacientes, como rituximab y alemtuzumab, puede interferir en la capacidad del reactivo de reconocer los antígenos diana o agotar las poblaciones de células clínicamente relevantes. Esto se debe tener en cuenta al analizar las muestras de pacientes tratados de esta manera. BD Biosciences no ha caracterizado el efecto de la presencia de anticuerpos terapéuticos en el rendimiento de este reactivo.
- Evite usar muestras potencialmente vulneradas, incluidas muestras coaguladas, hemolizadas, congeladas o refrigeradas.

6. PROCEDIMIENTO

Reactivos y materiales

Reactivos y materiales suministrados

Los reactivos se suministran como tubos de un solo uso en bolsas de papel de aluminio. Cada kit contiene cuatro bolsas, cada una de las cuales contiene cinco tubos de reactivo seco.

Reactivos y materiales necesarios pero no suministrados

- BD OneFlow™ Assays Installer I (Dispositivo de instalación I de ensayos de BD OneFlow™) (n.º de catálogo 664225)

  Se requiere un dispositivo de instalación para utilizar los reactivos BD OneFlow™ con la aplicación BD FACSuite™ Clinical. El dispositivo de instalación de ensayos incluye una hoja de adquisición, un informe de laboratorio, un informe del médico y un informe complementario que se usa para analizar las muestras e informar los resultados. A menos que ya tenga la última versión del BD OneFlow™ Assay Templates Installer (Dispositivo de instalación de plantillas para ensayos de BD OneFlow™), tendrá que pedir el dispositivo de instalación cuando solicite por primera vez el reactivo.

  La *Guía de aplicación de BD OneFlow™ para trastornos linfoproliferativos crónicos para los citómetros de flujo BD FACSLyric™* se proporciona junto con el dispositivo de instalación.
- BD OneFlow™ Assay Templates Installer (Dispositivo de instalación de plantillas para ensayos de BD OneFlow™) (n.º de catálogo 659305)

  Se requiere un dispositivo de instalación para utilizar los reactivos BD OneFlow™ con el software BD FACSDiva™. El dispositivo de instalación de plantillas incluye dos hojas de trabajo globales: la hoja de trabajo BD OneFlow™ Acquisition (Adquisición de BD OneFlow™) y la hoja de trabajo BD OneFlow™ Analysis (Análisis de BD OneFlow™). A menos que ya tenga la última versión del BD OneFlow™ Assay Templates Installer (Dispositivo de instalación de plantillas para ensayos BD OneFlow™), tendrá que pedir el dispositivo de instalación cuando solicite por primera vez el reactivo. El dispositivo de instalación también contiene la plantilla de OneFlow Setup (Configuración de OneFlow).

La *Guía de configuración de instrumentos para ensayos de BD OneFlow™*, la *Guía de aplicación de BD OneFlow™ LST* y la *Guía de aplicación de BD OneFlow™ para trastornos linfoproliferativos crónicos de las células B* se proporcionan junto con el dispositivo de instalación.

- BD FACS™ Lysing Solution (10X) (n.º de catálogo 349202)

  Consulte las instrucciones de uso (IFU) de la *BD FACS™ Lysing Solution* para conocer las precauciones y advertencias.
- Tubos cónicos de polipropileno de 15 o 50 ml
- Filtro de células de 40 µm (para procesar muestras de MO y GL)
- Jeringa de 1 cm^3 o 3 cm^3 (para procesar muestras de GL)
- Pipeta de Pasteur
- Pipeta serológica
- Micropipetador con puntas
- Mezclador de vórtice
- Centrífuga
- Búfer de lavado (PBS filtrado + BSA al 0,5 % + azida de sodio al 0,09 % o al 0,1 %)
- (Opcional) BD FACS™ Universal Loader

NOTA Los laboratorios deben validar cualquier desviación respecto de los siguientes procedimientos.

Instalación del ensayo o plantilla

Antes de ejecutar el ensayo por primera vez, es necesario instalar el BD OneFlow™ Assay Installer, que se utiliza con la aplicación BD FACSuite™ Clinical, o el BD OneFlow™ Assay Template Installer, que se utiliza con el software BD FACSDiva™. Se pueden instalar ensayos o plantillas adicionales al mismo tiempo, según sea necesario. Si analizará los archivos FCS en una estación de trabajo distinta a la que se utiliza para adquirir las muestras, asegúrese de instalar los ensayos o las plantillas en ambas estaciones de trabajo.

Para instalar el ensayo BD OneFlow™ en la aplicación BD FACSuite™ Clinical:

NOTA Cuando selecciona un ensayo para instalarlo, se sobrescribirá el ensayo BD OneFlow™ que se haya instalado previamente en el sistema. Si no desea que se sobrescriba un ensayo existente en su computadora, no seleccione ese ensayo del dispositivo de instalación durante el proceso de instalación.

1. Inserte el dispositivo de instalación y haga clic en el icono del instalador.

   Se abrirá el Asistente InstallShield de los ensayos BD OneFlow™.
2. Haga clic en **Next** (Siguiente).

   Se abrirá el acuerdo de licencia.
3. Seleccione la opción **I accept the terms in the license agreement** (Acepto los términos del acuerdo de licencia) y haga clic en **Next** (Siguiente).
4. Para instalar todos los ensayos incluidos en el dispositivo de instalación, seleccione la opción **Complete** (Completa) y haga clic en **Next** (Siguiente).
5. Opcional: Para instalar un subconjunto de los ensayos incluidos en el dispositivo de instalación, seleccione la opción **Custom** (Personalizada) y haga clic en **Next** (Siguiente).

   Se abrirá el cuadro de diálogo **Custom Setup** (Configuración personalizada).

   - Haga clic en el menú de la izquierda del ensayo correspondiente.
   - Desde el menú, seleccione **This assay will be installed on your local hard drive** (Este ensayo se instalará en el disco duro local).
6. Haga clic en **Install** (Instalar).

   Los ensayos se instalarán en la Biblioteca.
7. Haga clic en **Finish** (Finalizar).

   Se cerrará el Asistente InstallShield.
8. Opcional: Haga doble clic en el archivo ReadMe que está en el dispositivo de instalación.

Se abrirá el archivo ReadMe.

9. Cuando haya terminado de leerlo, haga clic en el cuadro de cierre.
10. Extraiga el dispositivo de instalación.

Para instalar la plantilla OneFlow en el software BD FACSDiva™:

NOTA Cuando selecciona una plantilla para instalarla, siempre se sobrescribirá cualquier plantilla que tenga el mismo nombre que se haya instalado previamente en el sistema. Si no desea que se sobrescriba una plantilla existente en su computadora, no seleccione esa plantilla del instalador durante el proceso de instalación.

1. Inserte el dispositivo de instalación y haga clic en el icono del instalador.
2. Siga las instrucciones que aparecen en el cuadro de diálogo.

   El instalador copiará y pegará las plantillas en la carpeta D:\BDExport\Templates\Panel\BD Panels.

   NOTA Si el sistema tiene una sola unidad, las plantillas se instalarán en C:\BDExport\Templates\Panel\BD Panels.

   Una vez finalizada la instalación, se abrirá un cuadro de diálogo que resume cuáles son las plantillas que se copiaron correctamente a la carpeta.
3. Haga clic en **OK** (Aceptar) para cerrar el cuadro de diálogo.
4. Se abrirá el archivo ReadMe del instalador. Cuando haya terminado de leerlo, haga clic en el cuadro de cierre.
5. Extraiga el dispositivo de instalación.

Configuración del citómetro

Para los citómetros de flujo BD FACSLyric™:

1. Utilice BD® CS&T Beads y la aplicación BD FACSuite™ Clinical versión 1.4 o posterior para realizar el Control de calidad de caracterización (CQC) cada 6 meses o según sea necesario, para realizar el Control de calidad de rendimiento diario (PQC) y para realizar la configuración diaria de los ajustes del ensayo y el tubo. Para configurar los ajustes del ensayo y el tubo, seleccione las casillas **Run Setup** (Ejecutar configuración) y **Generate Reports** (Generar informes).
2. Utilice el BD® FC Beads 7-Color Kit, el BD® FC Beads 5-Color Kit y la aplicación BD FACSuite™ Clinical versión 1.4 o posterior para actualizar las configuraciones de referencia cada 60 días. Asimismo, utilice el BD® FC Beads 2-Color Kit para configurar un instrumento de 12 colores.

   Consulte las *Instrucciones de uso del sistema BD FACSLyric™*, el *BD FACSLyric™ Clinical Reference System* (Sistema de referencia clínica BD FACSLyric™) y las instrucciones de uso del reactivo correspondiente para obtener más información.

Para los citómetros de flujo BD FACSCanto™ II:

1. Utilice BD FACSDiva™ CS&T IVD Beads (CS&T IVD Beads) y el software BD FACSDiva™ versión 8.0.1 o posterior para definir el valor basal del citómetro y realizar un control diario de su rendimiento.
2. Utilice BD OneFlow™ Setup Beads, sangre lavada y lisada, yBD FACSDiva™ la versión 8.0.1 o posterior del software para establecer mensualmente los voltajes de dispersión y de los tubos fotomultiplicadores (PMT).
3. Utilice BD® FC Beads y el software BD FACSDiva™ versión 8.0.1 o posterior para establecer la compensación de fluorescencia cada mes.
4. Recomendamos que confirme que los voltajes de los PMT (PMTV) estén dentro de sus respectivos rangos objetivo diarios.

   Para obtener más información, consulte la *Guía de configuración del instrumento para ensayos BD OneFlow™* y las instrucciones de uso del reactivo correspondiente.

Dilución de la BD FACS™ Lysing Solution

Diluya el concentrado 10X en una proporción 1:10 con agua desionizada a temperatura ambiente (20–25 °C). Cuando se almacena en un recipiente de vidrio o de polietileno de alta densidad (HDPE) a temperatura ambiente, la solución preparada se mantiene estable durante 1 mes.

Procesamiento de la muestra

Lavado de la muestra

NOTA Antes de lavar la muestra, confirme que el citómetro se haya configurado correctamente.

1. Para cada tubo que desee teñir, etiquete un tubo cónico de 15 ml con el ID de la muestra.
2. Prepare cada tipo de muestra según se describe:
   - Para las muestras de SP, invierta el tubo de recolección 10 veces para mezclarlas bien.
   - Para las muestras de MO, invierta el tubo de recolección 10 veces para mezclarlas bien. Verifique que la muestra no esté lipémica y que no contenga partículas.
     – Si es necesario, pase una cantidad suficiente de muestra por un filtro de células de 40 µm.
   - Para las muestras de GL, si no se trata de una suspensión monocelular:
     – Pase las muestras de GL en un filtro de células de 40 µm sobre un tubo cónico de 15 o 50 ml.
     – Perturbe suavemente la muestra de GL para obtener una suspensión monocelular presionando con el émbolo de una jeringa de 1 cm^3 o 3 cm^3.
     – Lave el filtro de células con búfer de lavado. Deseche el filtro de células.
     – Si es necesario, centrifugue a 540*g* durante 5 minutos a una temperatura de 20–25 °C. Extraiga el sobrenadante.
     – Vuelva a suspender el sedimento celular en un volumen adecuado de búfer de lavado.
   - Los aspirados con aguja fina (FNA) están listos para la tinción. No es necesario lavar las muestras.
3. Agregue 300 µl de la muestra a cada tubo cónico etiquetado.
4. Agregue 10 ml de búfer de lavado (PBS filtrado + BSA al 0,5 % + azida de sodio al 0,09 % o al 0,1 %).
5. Invierta el tubo 3–5 veces para mezclar bien.
6. Centrifugue a 540*g* durante 5 minutos a una temperatura de 20–25 °C.
7. Retire el sobrenadante sin perturbar el sedimento celular.

   NOTA Si el sedimento celular se perturba, vuelva a centrifugar el tubo y, luego, extraiga el sobrenadante sin perturbar el sedimento celular.
8. Agite el tubo en el mezclador de vórtice hasta que no queden agregados de células en el búfer de lavado.
9. Repita dos veces los pasos 7 a 11 para un total de tres lavados.
10. Vuelva a suspender el sedimento celular en búfer de lavado para aforar a un volumen final de 300 µl
11. Agite vigorosamente en un mezclador de vórtice durante 3 a 5 segundos para volver a suspender completamente el sedimento celular.

    NOTA Comience con la tinción de la muestra con el reactivo BD OneFlow™ dentro de los 30 minutos del último lavado. Almacene la muestra lavada a una temperatura de 20–25 °C hasta que quede teñida.

Tinción de la muestra

1. Si la bolsa se almacena en refrigeración, permita que llegue a temperatura ambiente antes de abrirla.

   NOTA El reactivo es muy sensible a la humedad. Para evitar la condensación, abra la bolsa solo si está a temperatura ambiente.
2. Para cada muestra de paciente, saque un tubo de reactivo de la bolsa.
3. Coloque los tubos en una gradilla, protegidos de la luz.

   Comience a teñir la muestra en el lapso de una hora después de quitar un tubo de la bolsa.
4. Vuelva a sellar de inmediato la bolsa con tubos no utilizados.

NOTA Asegúrese de que se vuelva a sellar completamente la bolsa después de sacar un tubo. El reactivo es muy sensible a la humedad. No retire el desecante de la bolsa del reactivo. Utilice todos los tubos en el lapso de un mes después de abrir la bolsa.

5. Dentro del área provista, anote el ID del paciente en la etiqueta del tubo.
6. Agite la muestra lavada en un mezclador de vórtice durante 3 a 5 segundos para mezclar bien.
7. Agregue 100 µl de muestra lavada al tubo. Agite vigorosamente en un mezclador de vórtice durante 3 a 5 segundos para mezclar bien.

   Si se utilizan menos de 100 µl de muestra, agregue búfer de lavado para aforar a un volumen final de 100 µl.

   NOTA La tinción de $2{,}5 \times 10^5$ a 4×10^7 glóbulos blancos/ml produce resultados equivalentes.
8. Incube durante 30 a 35 minutos a una temperatura de 20–25 °C, protegida de la luz.
9. Añada 2 ml de 1X BD FACS™ Lysing Solution. Agite en un mezclador de vórtice durante 3 a 5 segundos para mezclar bien.
10. Incube durante 8 a 12 minutos a una temperatura de 20–25 °C, protegida de la luz.
11. Centrifugue a 540*g* durante 5 minutos a una temperatura de 20–25 °C.
12. Retire el sobrenadante sin perturbar el sedimento celular, dejando aproximadamente 50 µl de líquido residual en el tubo.
13. Agite vigorosamente en un mezclador de vórtice hasta que el sedimento celular se vuelva a suspender completamente.
14. Agregue 2 ml de búfer de lavado al tubo. Agite en un mezclador de vórtice durante 3 a 5 segundos para mezclar bien.
15. Centrifugue a 540*g* durante 5 minutos a una temperatura de 20–25 °C.
16. Retire el sobrenadante sin perturbar el sedimento celular, dejando aproximadamente 50 µl de líquido residual en el tubo.
17. Agite vigorosamente en un mezclador de vórtice durante 3 a 5 segundos para volver a suspender el sedimento celular.
18. Agregue 200 µl de búfer de lavado al tubo. Agite en un mezclador de vórtice durante 3 a 5 segundos para mezclar bien.

    NOTA Las muestras deben obtenerse en un plazo de 60 minutos si se conservan a temperatura ambiente y protegidas de la luz.

Configuración del ensayo (citómetro de flujo BD FACSLyric™)

Para agregar un ID de lote y fecha de caducidad del reactivo a la biblioteca:

1. Desde la barra de navegación de la aplicación BD FACSuite™ Clinical, haga clic en el icono Library (Biblioteca).

   Se abre el espacio de trabajo de Library (Biblioteca).
2. Despliegue el menú **Beads and Reagents** (Esferas y reactivos) y seleccione **Reagents** (Reactivos).
3. Seleccione el reactivo BD OneFlow™ adecuado de la lista **Product Name** (Nombre del producto).

   Se abre el panel **OneFlow reagent** (Reactivo OneFlow) en la parte inferior de la página.
4. Haga clic en **Add Lot** (Agregar lote).

   Se abre el cuadro de diálogo **Add New Lot** (Agregar nuevo lote).
5. En la aplicación BD FACSuite™ Clinical versión 1.5, haga clic en **Scan Barcode** (Escanear código de barras) y, a continuación, escanee el código de barras de la bolsa o la etiqueta del tubo.

   Se ingresan el ID del lote y la fecha de caducidad en los campos correspondientes.

   NOTA En la aplicación BD FACSuite™ Clinical versión 1.4, agregue el ID del lote y la fecha de caducidad de forma manual.
6. Seleccione la casilla **Current Lot** (Lote actual).
7. Haga clic en **OK** (Aceptar).

   Se agregan el ID del lote y la fecha de caducidad en las columnas correspondientes del reactivo.

NOTA Agregue el lote y la fecha de caducidad del reactivo antes de la adquisición. Este procedimiento debe hacerse solo una vez para un lote de reactivo particular.

Para crear una lista de trabajo:

1. Desde la barra de navegación de la aplicación BD FACSuite™ Clinical, haga clic en el icono Worklists (Listas de trabajo).

   Se abre el espacio de trabajo de Worklists (Listas de trabajo).
2. En la pestaña **Manage Worklists** (Administrar listas de trabajo), haga clic en **New** (Nuevo).

   Se abre una lista de trabajo en blanco en otra pestaña.
3. En la sección **Worklist Entries** (Entradas de la lista de trabajo), seleccione la tarea correspondiente desde el menú **Task** (Tarea).
4. Ingrese el **Sample ID** (ID de la muestra) para las tareas del reactivo BD OneFlow™.

   No escanee el código de barras, que se encuentra en la etiqueta del tubo, en el software.

   NOTA No se pueden ejecutar lotes múltiples del mismo reactivo en la misma lista de trabajo.
5. En la sección **Loading Options** (Opciones de carga), seleccione **Manual** o **Universal Loader** desde el menú **Loading Option** (Opción de carga).
6. Si utiliza el Loader, seleccione **30 Tube Rack** (Gradilla de 30 tubos) o **40 Tube Rack** (Gradilla de 40 tubos) desde el menú **Carrier Type** (Tipo de soporte).

   NOTA Verifique que el orden de las muestras en la gradilla coincida con el orden ingresado en el software al configurar el Loader.

   Para obtener más información, consulte las *Instrucciones de uso del sistema BD FACSLyric™*.

Configuración del experimento (citómetro de flujo BD FACSCanto™ II)

1. Desde la barra de menú, seleccione **Edit > User Preferences** (Editar > Preferencias del usuario); luego, desplácese hacia la pestaña **FCS** y seleccione **Export FCS after recording** (Exportar FCS después del registro) para exportar automáticamente los archivos FCS después de la adquisición. Haga clic en **OK** (Aceptar).
2. Confirme que el citómetro se encuentre en la configuración predeterminada 4-2H-2V.
3. Desde la barra de menú, seleccione **Experiment > New Experiment > Blank Experiment** (Experimento > Nuevo experimento > Experimento en blanco). Haga clic en **OK** (Aceptar).

   NOTA También puede crear un experimento directamente desde el **Browser** (Navegador) con el icono **Experiment** (Experimento).
4. Si aparece la ventana **CST Mismatch** (Discrepancia de CST), seleccione **Use CST Settings** (Usar configuración de CST).
5. Cambie el nombre del experimento conforme a la práctica de su laboratorio.
6. En el **Browser** (Navegador), haga clic con el botón derecho en **Cytometer Settings > Link Setup** (Configuración del citómetro > Configuración del vínculo) y seleccione la matriz de compensación correspondiente calculada usando BD® FC Beads dentro de los últimos 31 días. Haga clic en **Link** (Vincular).

   Consulte las instrucciones de uso del *BD® FC Beads 8-Color Kit para ensayos de BD OneFlow™* o la *Guía de configuración de instrumentos para ensayos de BD OneFlow™*.
7. Si aparece la ventana **Cytometer Settings Mismatch** (Discrepancia en la configuración del citómetro), seleccione **Overwrite** (Sobrescribir).
8. Haga clic con el botón derecho en **Cytometer Settings > Unlink From** (Configuración del citómetro > Desvincular de) la configuración de compensación previamente vinculada. Haga clic en **OK** (Aceptar).

   NOTA La desvinculación de la configuración de compensación permite que se aplique la configuración de la aplicación actualizada mientras se conservan los valores de compensación.
9. En el **Browser** (Navegador), haga clic con el botón derecho en **Cytometer Settings > Application Settings > Apply** (Configuración del citómetro > Configuración de la aplicación > Aplicar) y seleccione la configuración más reciente de la aplicación determinada en los últimos 31 días usando BD OneFlow™ Setup Beads. Haga clic en **Apply** (Aplicar).

10. Se abrirá el cuadro de diálogo Confirm (Confirmar). Seleccione **Keep the compensation value** (Mantener el valor de compensación).
11. Si el cuadro de diálogo **Confirm Cytometer Changes** (Confirmar los cambios del citómetro) se lo pide, haga clic en **Yes** (Sí) para sobrescribir los valores del citómetro para el **FSC Area Scaling** (Escalamiento del área de FSC).
12. Desde la barra de menú, seleccione **Experiment > New Specimen** (Experimento > Nueva muestra).

    Se abrirá el cuadro de diálogo **Panel Templates** (Plantillas del panel).
13. Desplácese hacia la pestaña **BD Panels** (Paneles BD) y seleccione la plantilla del OneFlow LST.
14. Indique el número de muestras de pacientes que desea adquirir usando el campo **Copies** (Copias) que está cerca de la parte inferior de la pestaña **BD Panels** (Paneles BD). Haga clic en **OK** (Aceptar).
15. Cambie el nombre de cada muestra, por ejemplo, insertando el ID de paciente correspondiente antes del nombre de la muestra.

    NOTA Si tiene que volver a correr una muestra de un paciente en particular, coloque el puntero del tubo actual en el tubo que desea volver a correr. Haga clic en **Next Tube** (Siguiente tubo) en el **Acquisition Dashboard** (Tablero de adquisición) para crear otro tubo para ese paciente. No seleccione **Experiment > New Tube** (Experimento > Nuevo tubo) en la barra de menú ni use el ícono de **New Tube** (Nuevo tubo) de la barra de menú del **Browser** (Navegador) para crear el tubo adicional que se va a adquirir, ya que si lo hace, no se rellenarán los campos de etiquetas y códigos de barras.

    NOTA Si desea adquirir muestras de paciente adicionales teñidas con el reactivo BD OneFlow™ en el experimento, repita los pasos 12 al 15 para agregar nuevas muestras.

    Se abrirán dos cuadros de diálogo **Confirm** (Confirmar) que le preguntarán si desea crear otra hoja de trabajo de adquisición u otra hoja de trabajo de análisis. Haga clic en **Cancel** (Cancelar) en cada cuadro de diálogo.
16. Desde la barra del menú, seleccione **Experiment > Experiment Layout** (Experimento > Diseño del experimento) y navegue a la pestaña de **Keywords** (Palabras clave).
17. Resalte la palabra clave **Product ID** (ID de producto) del tubo correspondiente y escanee el código de barras de la etiqueta del tubo BD OneFlow™.

    NOTA Si no puede escanear el código de barras de la etiqueta del tubo, consulte Resolución de problemas.
18. Agregue manualmente la información correspondiente a las palabras clave restantes, según sea necesario.
19. Haga clic en **OK** (Aceptar) para cerrar el **Experiment Layout** (Diseño del experimento).

Adquisición de la muestra teñida

Para los citómetros de flujo BD FACSLyric™:

Hay disponibles dos versiones del ensayo:

Versión del ensayo	Software	Tiempo de detención	Modo de adquisición
Versión 1.0	Aplicación BD FACSuite™ Clinical versión 1.4 o posterior	5 minutos	Manual
Versión 1.1	Aplicación BD FACSuite™ Clinical versión 1.5 o posterior	3 minutos	Manual, Loader

El ensayo automáticamente recolectará 100 000 eventos totales. Una vez iniciada la adquisición, no puede sumar eventos para recolectar. Por este motivo, de ser necesario, cambie la cantidad de eventos que desea recolectar antes de iniciar la adquisición. Para cambiar la cantidad de eventos que se recolectarán, consulte

la *Guía de aplicación de BD OneFlow™ para trastornos linfoproliferativos crónicos para los citómetros de flujo BD FACSLyric™*. Se puede determinar una cantidad de células que tenga relevancia clínica según el criterio de un profesional médico adecuado.

Para adquirir la muestra con el ensayo BD OneFlow™ versión 1.1:

1. En la barra **Worklist Controls** (Controles de la lista de trabajo), seleccione **Run All** (Correr todos) desde el menú **Run** (Correr) para ejecutar la lista de trabajo completa desde el inicio.

   Para adquirir un tubo específico, también puede configurar un puntero de ejecución a la muestra que quiere trabajar y seleccionar **Run from Pointer** (Correr desde el puntero) en el menú **Run** (Correr).
2. Agite cada tubo teñido en un mezclador de vórtice durante 3 a 5 segundos a baja velocidad inmediatamente antes de la adquisición.

   Si utiliza el BD FACS™ Universal Loader, agite los tubos inmediatamente antes de colocarlos en las gradillas del Loader.

   NOTA Asegúrese de adquirir todos los tubos del BD OneFlow™ en la gradilla en un plazo de 1 hora. De lo contrario, deberá validar los tubos adquiridos fuera del plazo de 1 hora.
3. Siga las indicaciones del software para cargar o descargar tubos.

   Se abre la hoja de adquisición de BD OneFlow™. La hoja de adquisición contiene gráficos de puntos y regiones para identificar leucocitos, linfocitos y las poblaciones de células correspondientes del ensayo.
4. Analice cada gráfico de puntos en la hoja de adquisición.

   NOTA El tiempo de previsualización es de 10 segundos, luego se guardarán los datos de forma automática. No aumente el tiempo de previsualización y no se arriesgue a perder la muestra debido al volumen insuficiente.

   NOTA El ensayo automáticamente recolectará 100 000 eventos totales. Si el ensayo no puede recolectar 100.000 eventos totales, la adquisición se detendrá después de 3 minutos. Se genera un mensaje de CC, “All Events gate does not contain the requested 100,000 events” (La región All Events no contiene los 100.000 eventos solicitados) en el informe de laboratorio. El mensaje puede desestimarse si es posible analizar la muestra con los eventos adquiridos.

   Para obtener más información, consulte las *Instrucciones de uso del sistema BD FACSLyric™*.

Para adquirir la muestra con el ensayo BD OneFlow™ versión 1.0:

1. En la barra **Worklist Controls** (Controles de la lista de trabajo), seleccione **Run All** (Correr todos) desde el menú **Run** (Correr) para ejecutar la lista de trabajo completa desde el inicio.

   Para adquirir un tubo específico, también puede configurar un puntero de ejecución a la muestra que quiere trabajar y seleccionar **Run from Pointer** (Correr desde el puntero) en el menú **Run** (Correr).
2. Agite cada tubo teñido en un mezclador de vórtice durante 3 a 5 segundos a baja velocidad inmediatamente antes de la adquisición.
3. Siga las indicaciones del software para cargar o descargar tubos.

   Se abre la hoja de adquisición de BD OneFlow™. La hoja de adquisición contiene gráficos de puntos y regiones para identificar leucocitos, linfocitos y las poblaciones de células correspondientes del ensayo.
4. Analice cada gráfico de puntos en la hoja de adquisición.

   NOTA El tiempo de previsualización es de 10 segundos, luego se guardarán los datos de forma automática. No aumente el tiempo de previsualización y no se arriesgue a perder la muestra debido al volumen insuficiente.
5. Si parece que se recolectarán menos de 100.000 eventos, controle el volumen de la muestra y haga clic en **Stop Tube** (Detener el tubo) en la barra **Worklist Controls** (Controles de la lista de trabajo) para detener la adquisición antes de que el tubo se seque.

   NOTA El ensayo automáticamente recolectará 100 000 eventos totales. Si el ensayo no puede recolectar 100.000 eventos totales, la adquisición se detendrá después de 5 minutos. No obstante,

asegúrese de controlar el volumen de la muestra y haga clic en **Stop Tube** (Detener el tubo) en la barra **Worklist Controls** (Controles de la lista de trabajo) para detener la adquisición antes de que el tubo se seque. Para cambiar los criterios de detención, consulte *la Guía de aplicación de BD OneFlow™ para trastornos linfoproliferativos crónicos para los citómetros de flujo BD FACSLyric™*.

Para obtener más información, consulte las *Instrucciones de uso del sistema BD FACSLyric™*.

Para los citómetros de flujo BD FACSCanto™ II:

1. En el Browser (Navegador), expanda la muestra correspondiente y coloque el puntero del tubo actual en ese tubo.
2. Seleccione la pestaña de la hoja de trabajo de adquisición **BD OneFlow™ Acquisition** correspondiente.
3. Agite el tubo teñido en un mezclador de vórtice durante 3 a 5 segundos a velocidad baja.
4. Instale el tubo en el citómetro. Ajuste la velocidad de flujo a **Medium** (Media) en el **Acquisition Dashboard** (Tablero de adquisición). Haga clic en **Acquire Data** (Adquirir datos).
5. Verifique que la población esté en escala y ajuste la región del primer gráfico de la hoja de trabajo de adquisición para excluir los residuos, si es necesario.
6. Haga clic en **Record Data** (Registrar datos) en el **Acquisition Dashboard** (Tablero de adquisición) para recolectar los eventos totales.

   NOTA La plantilla automáticamente recolectará 100 000 eventos totales. Use el menú del **Acquisition Dashboard** (Tablero de adquisición) para seleccionar un número distinto de eventos por adquirir, si es necesario. Se puede determinar una cantidad de células que tenga relevancia clínica según el criterio de un profesional médico adecuado.
7. Inspeccione los gráficos de puntos en la hoja de trabajo de adquisición y ajuste las regiones según sea necesario.

   Es posible que algunos de los gráficos de puntos luzcan diferentes de aquellos de otros experimentos. El gráfico de puntos inicial de FSC-A vs. SSC-A que sirve para identificar células y eliminar residuos podría aparecer comprimido. Esto es una consecuencia de los valores objetivo usados para crear la configuración de la aplicación. Estos valores los especifica el Consorcio EuroFlow.

   NOTA Agrande los gráficos de puntos mientras esté ajustando las regiones para que pueda ver las poblaciones de interés con mayor facilidad. Después de ajustar las regiones, reduzca el gráfico de puntos a su tamaño original.

   El gráfico de puntos de FSC-A vs. SSC-A se usa para identificar células.

   Los gráficos de puntos restantes contienen regiones para identificar las poblaciones de células correspondientes al ensayo, o bien no contienen regiones y se incluyen para garantizar que los anticuerpos puedan teñir las células de la muestra y, así, servir como control de calidad interno del tubo.

   Consulte la Guía de aplicación de BD OneFlow™ correspondiente para obtener ejemplos de los gráficos de puntos que muestran poblaciones de células normales en la hoja de trabajo de adquisición.
8. Adquiera la siguiente muestra.
9. Desde la barra de menú, seleccione **File > Export > Experiments** (Archivo > Exportar > Experimentos) y elija la opción **Directory Export** (Exportación del directorio). Haga clic en **OK** (Aceptar).

Análisis de los datos con la aplicación BD FACSuite™ Clinical

NOTA Los archivos FCS adquiridos con el ensayo BD OneFlow™ versión 1.0 se pueden abrir en el ensayo BD OneFlow™ versión 1.1.

Para analizar una muestra teñida usando BD OneFlow™ LST:

1. Configure el puntero de ejecución en la muestra adecuada en el panel **Worklist Entries** (Entradas de la lista de trabajo).

   Se abre el Informe de laboratorio de BD OneFlow™ LST en la pestaña **Laboratory Report** (Informe de laboratorio).
2. Repase el Informe de laboratorio de BD OneFlow™ LST.

El informe de laboratorio consta de seis páginas.

– La primera página del informe exhibe información de la muestra y del tubo, las estadísticas de la población y los mensajes de control de calidad, si se generó alguno.

Las poblaciones que tienen una cantidad baja de eventos pueden informar %Parent (%Matriz) o %Grandparent (%Matriz de la matriz) como 0,0 %. Esto se debe a que en la aplicación BD FACSuite™ Clinical se redondea a una sola posición decimal.

– Los gráficos de puntos que aparecen en la segunda página del informe de laboratorio sirven para excluir los residuos y los dobletes y para identificar las poblaciones de células principales: leucocitos, linfocitos, células B, células T, células T TCRγδ$^+$ y células T TCRγδ$^-$.

Las regiones que se proporcionan en los gráficos de puntos del Informe de laboratorio de BD OneFlow™ LST sirven para analizar las poblaciones de células normales y anormales en la muestra.

Agrande los gráficos de puntos mientras esté ajustando las regiones para que pueda ver las poblaciones de interés con mayor facilidad. Después de ajustar las regiones, reduzca el gráfico de puntos a su tamaño original. Consulte la *Guía de aplicación de BD OneFlow™ para trastornos linfoproliferativos crónicos para los citómetros de flujo BD FACSLyric™*a fin de ver ejemplos de los gráficos de puntos que muestran poblaciones de células normales.

– Los gráficos de puntos que aparecen en la tercera página del informe de laboratorio sirven para identificar y caracterizar las células B Igκ$^+$ e Igλ$^+$ y para caracterizar en más detalle la población de células B.

– Los gráficos de puntos que aparecen en la cuarta página del informe de laboratorio sirven para dividir las células T TCRγδ$^-$ en las poblaciones de CD4$^+$CD8$^-$, CD8$^+$CD4$^-$, CD4$^+$CD8$^+$ y CD4$^-$CD8$^-$. Los gráficos de puntos también sirven para caracterizar en más detalle las poblaciones de células T TCRγδ$^+$ y TCRγδ$^-$.

– Los gráficos de puntos que aparecen en la quinta página del informe de laboratorio sirven para identificar y caracterizar las células NK.

– En la última página del informe de laboratorio se incluyen el lote y las fechas de caducidad de BD® CS&T Beads y el reactivo BD OneFlow™, el Control de calidad de caracterización (CQC), las configuraciones de referencia, los ajustes del tubo y la configuración del citómetro.

3. (Opcional) Seleccione la pestaña **Physician Report** (Informe médico) para ver el informe.

   El Informe médico de OneFlow contiene un resumen general de los resultados del ensayo.

4. (Opcional) Seleccione la pestaña **Supplemental Report** (Informe complementario) para agregar gráficos de puntos adicionales para continuar analizando la muestra.

   Para obtener más información, consulte la Guía de aplicación de *BD OneFlow™ para trastornos linfoproliferativos crónicos para los citómetros de flujo BD FACSLyric™*.

Todas las regiones eliminadas en este Informe complementario se reflejan en los Informes de laboratorio y del médico. Todas las regiones creadas en este Informe complementario podrían estar reflejadas en el Informe de laboratorio.

No agregue gráficos de puntos ni regiones en los Informes de laboratorio y del médico. No se pueden borrar e invalidarán el informe.

5. Seleccione la pestaña **Laboratory Report** (Informe de laboratorio).
6. Haga clic en **E-Sign** (Firmar electrónicamente).

   Se abrirá el cuadro de diálogo E-Signature (Firma electrónica).

7. Seleccione el ID de usuario.

8. Escriba la contraseña.
9. (Opcional) Agregue comentarios.
10. Haga clic en **Sign** (Firmar).

    Se agregan el ID del usuario que firma, la fecha y hora y los comentarios en el cuadro de firma electrónica en los tres informes.

    Para obtener más información y opciones de exportación, consulte las *Instrucciones de uso del sistema BD FACSLyric™*.

Para analizar una muestra teñida usando BD OneFlow™ B-CLPD T1:

1. Configure el puntero de ejecución en la muestra adecuada en el panel **Worklist Entries** (Entradas de la lista de trabajo).

   Se abre el Informe de laboratorio de BD OneFlow™ B-CLPD T1 en la pestaña **Laboratory Report** (Informe de laboratorio).
2. Repase el Informe de laboratorio de BD OneFlow™ B-CLPD T1.

   El informe de laboratorio consta de cuatro páginas.

   – La primera página del informe exhibe información de la muestra y del tubo, las estadísticas de la población y los mensajes de control de calidad, si se generó alguno.

   Las poblaciones que tienen una cantidad baja de eventos pueden informar %Parent (%Matriz) o %Grandparent (%Matriz de la matriz) como 0,0 %. Esto se debe a que en la aplicación BD FACSuite™ Clinical se redondea a una sola posición decimal.

   – Los gráficos de puntos que aparecen en la segunda página del informe de laboratorio sirven para excluir los residuos y los dobletes y para identificar los leucocitos y linfocitos.

   Agrande los gráficos de puntos mientras esté ajustando las regiones para que pueda ver las poblaciones de interés con mayor facilidad. Después de ajustar las regiones, reduzca el gráfico de puntos a su tamaño original. Consulte la *Guía de aplicación de* BD OneFlow™ para trastornos linfoproliferativos crónicos para los citómetros de flujo BD FACSLyric™ a fin de ver ejemplos de los gráficos de puntos que muestran poblaciones de células normales.

   – Los gráficos de puntos que aparecen en la tercera página del informe de laboratorio sirven para identificar y caracterizar las células B.

   – La última página del informe de laboratorio muestra el lote y las fechas de caducidad de BD® CS&T Beads y el reactivo BD OneFlow™, el Control de calidad de caracterización (CQC), las configuraciones de referencia, los ajustes del tubo y la configuración del citómetro.
3. (Opcional) Seleccione la pestaña **Physician Report** (Informe médico) para ver el informe.

   El Informe médico de BD OneFlow™ B-CLPD T1 contiene un resumen general de los resultados del ensayo.
4. (Opcional) Seleccione la pestaña **Supplemental Report** (Informe complementario) para agregar gráficos de puntos adicionales para continuar analizando la muestra.

   Para obtener más información, consulte la *Guía de aplicación de BD OneFlow™ para trastornos linfoproliferativos crónicos para los citómetros de flujo BD FACSLyric™*.

Todas las regiones eliminadas en este Informe complementario se reflejan en los Informes de laboratorio y del médico. Todas las regiones creadas en este Informe complementario podrían estar reflejadas en el Informe de laboratorio.

No agregue gráficos de puntos ni regiones en los Informes de laboratorio y del médico. No se pueden borrar e invalidarán el informe.

5. Seleccione la pestaña **Laboratory Report** (Informe de laboratorio).
6. Haga clic en **E-Sign** (Firmar electrónicamente).

   Se abrirá el cuadro de diálogo E-Signature (Firma electrónica).
7. Seleccione el ID de usuario.
8. Escriba la contraseña.
9. (Opcional) Agregue comentarios.
10. Haga clic en **Sign** (Firmar).

    Se agregan el ID del usuario que firma, la fecha y hora y los comentarios en el cuadro de firma electrónica en los tres informes.

    Para obtener más información y opciones de exportación, consulte las *Instrucciones de uso del sistema BD FACSLyric™*.

Análisis de los datos con el software BD FACSDiva™

Para analizar una muestra teñida usando BD OneFlow™ LST:

1. Desde la barra de menú, seleccione **File > Import > Experiments** (Archivo > Importar > Experimentos).
2. Seleccione el experimento que desea analizar. Haga clic en **Import** (Importar).

   Se abrirá el experimento con las hojas de trabajo de adquisición y análisis asociadas.
3. Seleccione la pestaña de la hoja de trabajo de análisis **BD OneFlow™ LST Analysis**.
4. Inspeccione los gráficos de puntos que aparecen en la página 1 de la hoja de trabajo de análisis del LST y ajuste las regiones según sea necesario.

   Es posible que algunos de los gráficos de puntos luzcan diferentes de aquellos de otros experimentos. El gráfico de puntos inicial de FSC-A vs. SSC-A que sirve para identificar células y eliminar residuos podría aparecer comprimido. Esto es una consecuencia de los valores objetivo usados para crear la configuración de la aplicación. Estos valores los especifica el Consorcio EuroFlow.

   NOTA Agrande los gráficos de puntos mientras esté ajustando las regiones para que pueda ver las poblaciones de interés con mayor facilidad. Después de ajustar las regiones, reduzca el gráfico de puntos a su tamaño original.

   Los tres primeros gráficos de puntos que aparecen en la hoja de trabajo de análisis del LST identifican células, singletes FSC y singletes SSC. Los residuos y los dobletes se excluyen ajustando las regiones.

   Examine las poblaciones de leucocitos y linfocitos en el gráfico de puntos de CD45 V500-A vs. SSC-A.

   Examine las poblaciones de células B y células T en el gráfico de puntos de CD3 APC-A vs. CD19+TCRgd PE-Cy7-A de la población de linfocitos. Examine las poblaciones de TCRγ/δ^+ y TCRγ/δ^- en el gráfico de puntos de CD3 APC-A vs. CD19+TCRgd PE-Cy7-A de la población de células T. El gráfico de puntos de CD38 APC-H7-A vs. SSC-A se incluye para fines informativos para permitir la visualización de células $CD38^+$.

   NOTA Consulte la *Guía de aplicación de BD OneFlow™ LST* para ver ejemplos de los gráficos de puntos que muestran poblaciones de células normales.
5. Inspeccione los gráficos de puntos que aparecen en la página 2 de la hoja de trabajo de análisis del LST y ajuste las regiones según sea necesario.

   Los gráficos de puntos que aparecen en la página 2 de la hoja de trabajo de análisis identifican varias poblaciones de células T. Las células T TCRγ/δ^- se dividen en

   poblaciones de $CD8^+CD4^-$, $CD4^+CD8^+$, $CD4^+CD8^-$ y $CD4^-CD8^-$ en el gráfico de puntos

   CD20+CD4 V450-A vs. CD8+IgL FITC-A.

   Los gráficos de puntos restantes caracterizan adicionalmente a las células TCRγ/δ^- y TCRγ/δ^+ usando diversos marcadores.
6. Inspeccione los gráficos de puntos que aparecen en la página3 de la hoja de trabajo de análisis del LST y ajuste las regiones según sea necesario.

Los gráficos de puntos que aparecen en la página 3 de la hoja de trabajo de análisis identifican las células B. Las células B se identifican inicialmente como $CD3^{-}CD19^{+}CD45^{+}$. Examine el nivel de expresión de CD20 en el gráfico de puntos de CD19+TCRgd PE-Cy7-A vs. CD20+CD4 V450-A.

Examine la relación de células B que expresan Igκ a células B que expresan Igλ en el gráfico de puntos de CD56+IgK PE-A vs. CD8+IgL FITC-A.

Los gráficos de puntos restantes caracterizan adicionalmente a las células B usando diversos marcadores.

7. Inspeccione los gráficos de puntos que aparecen en la página4 de la hoja de trabajo de análisis del LST y ajuste las regiones según sea necesario.

   Los gráficos de puntos que aparecen en la página 4 de la hoja de trabajo de análisis identifican células NK. Las células NK se identifican de la población NOT(T cells OR B cells) [población de células no T ni B] en el gráfico de puntos de CD45 V500-A vs. CD56+IgK PE-A.

   Los gráficos de puntos restantes caracterizan adicionalmente a las células NK usando diversos marcadores.

8. Examine los resultados en el recuadro de estadísticas que aparece en la página 5 de la hoja de trabajo de análisis del LST.

   Confirme que todas las palabras clave estén presentes en el recuadro de estadísticas. Si falta cualquiera de las palabras clave, consulte Resolución de problemas.

9. Realice análisis adicionales según sea necesario.

   NOTA Las regiones que se proporcionan en los gráficos de puntos de la hoja de trabajo de análisis del LST sirven para analizar las poblaciones de células normales y aberrantes en la muestra.

10. Guarde la hoja de trabajo de análisis del LST como un archivo PDF.

    NOTA La hoja de trabajo de análisis del LST es una hoja de trabajo global. Cualquier región que se ajuste al analizar una muestra en una hoja de trabajo global se cambiará en los archivos analizados previamente. Los PDF guardados con anterioridad no cambiarán, pero si vuelve a una hoja de trabajo global analizada previamente, tendrá que reajustar las regiones para que coincidan con las anteriores.

11. (Opcional) Haga clic en **Print** (Imprimir) para imprimir la hoja de trabajo de análisis del LST.

    Analice la siguiente muestra.

BD OneFlow™ B-CLPD T1

1. Seleccione la pestaña de la hoja de trabajo de análisis **BD OneFlow™ B-CLPD T1 Analysis** .
2. Inspeccione los gráficos de puntos que aparecen en la página 1 de la hoja de trabajo de análisis y ajuste las regiones según sea necesario.

   Es posible que algunos de los gráficos de puntos luzcan diferentes de aquellos de otros experimentos. El gráfico de puntos inicial de FSC-A vs. SSC-A que sirve para identificar células y eliminar residuos podría aparecer comprimido. Esto es una consecuencia de los valores objetivo usados para crear la configuración de la aplicación. Estos valores los especifica el Consorcio EuroFlow.

   NOTA Agrande los gráficos de puntos mientras esté ajustando las regiones para que pueda ver las poblaciones de interés con mayor facilidad. Después de ajustar las regiones, reduzca el gráfico de puntos a su tamaño original.

   Los tres primeros gráficos de puntos que aparecen en la hoja de trabajo de análisis identifican células, singletes FSC y singletes SSC. Los residuos y los dobletes se excluyen ajustando las regiones.

   Examine las poblaciones de leucocitos y linfocitos en el gráfico de puntos de CD45 V500-A vs. SSC-A.

   NOTA Consulte la *Guía de aplicación de BD OneFlow™ para trastornos linfoproliferativos crónicos de las células B* para ver ejemplos de los gráficos de puntos que muestran poblaciones de células normales en la hoja de trabajo de análisis.

3. Examine la población de células B en el gráfico de puntos de CD19 PE-Cy7-A vs. CD20 V450-A que aparece en la página 2 de la hoja de trabajo de análisis y ajuste la región según sea necesario.

   Las células B se caracterizan adicionalmente según los niveles de expresión de CD23, CD10, CD79b, CD200, CD43 y CD45 en los gráficos de puntos restantes.
4. Examine los resultados en el recuadro de estadísticas que aparece en la página 3 de la hoja de trabajo de análisis.

   Confirme que todas las palabras clave estén presentes en el recuadro de estadísticas. Si falta cualquiera de las palabras clave, consulte Resolución de problemas.
5. Realice análisis adicionales según sea necesario.

   NOTA Las regiones que se proporcionan en los gráficos de puntos de la hoja de trabajo de análisis sirven para analizar las poblaciones de células normales y aberrantes en la muestra.

   NOTA Al evaluar la muestra de un paciente, debe analizar los archivos FCS adquiridos de una muestra de paciente teñida tanto con BD OneFlow™ LST como con BD OneFlow™ B-CLPD T1. Los marcadores que están presentes en el BD OneFlow™ B-CLPD T1 se usan junto con los marcadores CD5, CD38, anti-kappa y anti-lambda, presentes en el BD OneFlow™ LST, para diagnosticar diferencialmente la CLL contra otros trastornos linfoproliferativos crónicos de las células B. Consulte la *Guía de aplicación de BD OneFlow™ para trastornos linfoproliferativos crónicos de las células B* para ver ejemplos de los gráficos de puntos que muestran poblaciones de células normales en la hoja de trabajo de análisis.
6. Guarde la hoja de trabajo de análisis del BD OneFlow™ B-CLPD T1 como un archivo PDF.

   NOTA La hoja de trabajo de análisis del BD OneFlow™ B-CLPD T1 es una hoja de trabajo global. Cualquier región que se ajuste al analizar una muestra en una hoja de trabajo global se cambiará en los archivos analizados previamente. Los PDF guardados con anterioridad no cambiarán, pero si vuelve a una hoja de trabajo global analizada previamente, tendrá que reajustar las regiones para que coincidan con las anteriores.
7. (Opcional) Haga clic en Print (Imprimir) para imprimir la hoja de trabajo de análisis.
8. Analice la siguiente muestra.

7. RESULTADOS

Datos representativos

Consulte la guía de aplicación correspondiente para ver los informes de laboratorio que muestran gráficos de puntos de una muestra adulta hematológicamente normal teñida con cada reactivo.

Para los citómetros de flujo BD FACSLyric™:

- *Guía de aplicación de BD OneFlow™ para trastornos linfoproliferativos crónicos para los citómetros de flujo BD FACSLyric™*

Para los citómetros de flujo BD FACSCanto™ II:

- *Guía de aplicación de BD OneFlow™ LST*
- *Guía de aplicación de BD OneFlow™ para trastornos linfoproliferativos crónicos de las células B*

8. LIMITACIONES

- El uso de este reactivo para la evaluación diagnóstica de trastornos hematológicos debe hacerse en el contexto de un análisis inmunofenotípico exhaustivo que incluya otros marcadores relevantes.
- El uso de los reactivos requiere experiencia en la clasificación e inmunofenotipificación de leucemia y linfoma. Un patólogo o un profesional equivalente debe interpretar los resultados en conjunto con otros hallazgos clínicos o de laboratorio.
- Los reactivos no se han evaluado en muestras de pacientes con enfermedad residual mínima (MRD).

9. CARACTERÍSTICAS RELATIVAS AL RENDIMIENTO

Manipulación y recolección de las muestras (AOB/AOS)

Se realizó un estudio para evaluar la antigüedad de la sangre (AOB) y la antigüedad de la tinción (AOS) usando BD OneFlow™ LST y BD OneFlow™ B-CLPD T1. Se evaluó la estabilidad de las muestras de sangre periférica, médula ósea y ganglios linfáticos anticoaguladas con EDTA o heparina considerando el efecto combinado de lo siguiente:

- AOB: tiempo transcurrido entre la recolección y la tinción de la muestra.
- AOS: tiempo transcurrido entre la finalización del procesamiento de la muestra teñida y la adquisición con el citómetro de flujo.

Las muestras se analizaron en un plazo de hasta 28 horas después de la recolección y las muestras teñidas se analizaron en un plazo de hasta 80 minutos después de la tinción. Todas las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente antes de la tinción o la adquisición.

En función de los resultados de este estudio, recomendamos teñir las muestras en un plazo de 24 horas después de su recolección y adquirirlas en un plazo de 1 hora después de su tinción si se conservan a una temperatura de 20–25 °C.

Citómetro de flujo BD FACSLyric™ (BD OneFlow™ LST)

Método comparativo: BD FACSLyric™ vs. citómetro de flujo BD FACSCanto™ II (BD OneFlow™ LST)

Se realizó una comparación de método entre el sistema BD OneFlow™ en el citómetro de flujo BD FACSLyric™ (método experimental) y el sistema BD OneFlow™ en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II (método comparativo) en 4 centros clínicos. El sistema BD OneFlow™ en BD FACSLyric™ incluye BD® CS&T Beads, BD® FC Beads 7-Color Kit, BD® FC Beads 5-Color Kit y BD OneFlow™ LST. Las muestras teñidas se adquirieron con un citómetro de flujo BD FACSLyric™ de 10 colores (4 azules, 3 rojos, 3 violetas) usando la aplicación BD FACSuite™ Clinical versión 1.3* y el ensayo BD OneFlow™ LST. El sistema de referencia BD OneFlow™ en BD FACSCanto™ II consta de BD FACSDiva™ CS&T IVD Beads, BD OneFlow™ Setup Beads, BD® FC Beads 8-Color Kit para ensayos BD OneFlow™ y BD OneFlow™ LST. Las muestras teñidas se adquirieron en un citómetro de flujo BD FACSCanto™ II (4-2H-2V) usando software BD FACSDiva™ v8.0.2 y la plantilla BD OneFlow™ LST. En el estudio, se incorporaron en total 98 muestras de SP, 26 muestras de MO y 16 muestras de GL.

* Se realizó un estudio de regresión, que demuestra la equivalencia entre la aplicación BD FACSuite™ Clinical versión 1.3 y la versión 1.4.

Las muestras se recolectaron en los anticoagulantes que se muestran. Consulte la tabla incluida a continuación.

Tabla 4 Anticoagulantes utilizados para recolectar las muestras

	Anticoagulante	
Tipo de muestra	**EDTA**	**Heparina**
SP	72	26
MO	23	3

Para las muestras de SP, MO y GL, el primer lavado se inició antes de transcurridas 23, 24 o 23 horas desde su recolección, respectivamente. Las muestras de SP, MO y GL teñidas se adquirieron antes de transcurridos 50, 48 o 31 minutos de la resuspensión final, respectivamente. Se identificaron las muestras como "anormales" (anormal para células B, células T o células NK) o "normales" (normal para células T, células B y células NK) usando dos sistemas y se compararon.

La concordancia se calculó de la siguiente manera:

% de concordancia global = ((a+d)/(a+b+c+d))×100
% de concordancia positiva = (a/(a+c))×100
% de concordancia negativa = (d/(d+b))×100

donde,

a = número de muestras "anormales" para ambos sistemas,
b = número de muestras "anormales" en el citómetro de flujo BD FACSLyric™ pero "normales" en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II,
c = número de muestras "normales" en el citómetro de flujo BD FACSLyric™ pero "anormales" en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II,
d = número de muestras "normales" para ambos sistemas.

Los resultados para todos los tipos de células se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 5 Concordancia para todas las células identificadas como "anormales" o "normales".

		Método comparativo (citómetro de flujo BD FACSCanto™ II)		
		Anormal	Normal	Total
Método de investigación (citómetro de flujo BD FACSLyric™)	Anormal	63	0	63
	Normal	0	77	77
	Total	63	77	140

El % de concordancia global es del 100 %. El límite inferior del intervalo de confianza de 95 % es de 97,88 %.

La concordancia positiva para "anormal" (anormal para células B, células T y células NK) es 100 %. La concordancia negativa para "normal" (normal para células T, células B y células NK) es 100 %.

Los resultados para las células B se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 6 Concordancia para las células B identificadas como "anormales" o "normales".

		Método comparativo (citómetro de flujo BD FACSCanto™ II)		
		Anormal	Normal	Total
Método de investigación (citómetro de flujo BD FACSLyric™)	Anormal	52	0	52
	Normal	0	88	88
	Total	52	88	140

El % de concordancia global es del 100 %. El límite inferior del intervalo de confianza de 95 % es de 97,88 %.

La concordancia positiva para “anormal” (anormal para células B) es 100 %. La concordancia negativa para “normal” (normal para células B) es 100 %.

Los resultados para las células T se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 7 Concordancia para las células T identificadas como “anormales” o “normales”.

		Método comparativo (citómetro de flujo BD FACSCanto™ II)		
		Anormal	Normal	Total
Método de investigación (citómetro de flujo BD FACSLyric™)	Anormal	9	0	9
	Normal	0	131	131
	Total	9	131	140

El % de concordancia global es del 100 %. El límite inferior del intervalo de confianza de 95 % es de 97,88 %.

La concordancia positiva para “anormal” (anormal para células T) es 100 %. La concordancia negativa para “normal” (normal para células T) es 100 %.

Los resultados para las células NK se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 8 Concordancia para las células NK identificadas como “anormales” o “normales” [a]

		Método comparativo (citómetro de flujo BD FACSCanto™ II)		
		Anormal	Normal	Total
Método de investigación (citómetro de flujo BD FACSLyric™)	Anormal	2	0	2
	Normal	0	138	138
	Total	2	138	140

a. Las neoplasias de células NK son poco frecuentes; por lo tanto, el número esperado de muestras es muy bajo.

El % de concordancia global es del 100 %. El límite inferior del intervalo de confianza de 95 % es de 97,88 %.

La concordancia positiva para “anormal” (anormal para células NK) es 100 %. La concordancia negativa para “normal” (normal para células NK) es 100 %.

Equivalencia: citómetro de flujo BD FACSLyric™ vs. BD FACSCanto™ II (BD OneFlow™ LST)

Se realizó una evaluación de las poblaciones de células indicadas, expresadas como un porcentaje de otra población de células, para cada muestra evaluada que se incorporó al estudio de comparación de método. Las muestras se analizaron utilizando el sistema BD OneFlow™ en el citómetro de flujo BD FACSLyric™ y el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II como se describió anteriormente.

Se calculó el sesgo medio para los porcentajes de las poblaciones de células indicadas determinadas en el citómetro de flujo BD FACSLyric™ frente al citómetro de flujo BD FACSCanto™ II. Consulte la tabla incluida a continuación.

Tabla 9 Resumen del sesgo medio de los porcentajes de subconjuntos

Población	N.º de muestras	Sesgo medio	CL inferior de 95 % del sesgo medio	CL superior de 95 % del sesgo medio
Leucocitos (% de singletes de SSC)	134	–0,27	–0,73	0,19
Linfocitos (% de leucocitos)	134	–0,63	–1,2	–0,06
Células T (% de linfocitos)	134	–0,17	–0,58	0,24
Células CD4+CD8– (% de células T)	134	–0,53	–1,03	–0,04
Células CD8+CD4– (% de células T)	134	0,2	–0,41	0,81
Células B (% de linfocitos)	134	–0,26	–0,72	0,19
Células sIgκ+ (% de células B)	134	–1,19	–2,1	–0,29
Células sIgλ+ (% de células B)	134	0,7	0,02	1,38
Células NK (% de linfocitos)	134	0,45	–0,07	0,98

Los resultados de los estudios de comparación y equivalencia de métodos indican que los dos sistemas son sustancialmente equivalentes.

Método comparativo: BD FACS™ Universal Loader vs. adquisición manual (BD OneFlow™ LST)

Se realizó un estudio en un centro para demostrar la equivalencia entre la adquisición con el BD FACS™ Universal Loader y la adquisición manual. Las muestras de sangre periférica o médula ósea de sujetos normales y anormales se tiñeron usando un lote de BD OneFlow™ LST. Para cada muestra, se adquirieron 10 réplicas teñidas de forma manual o con el BD FACS™ Universal Loader (usando las gradillas de 30 tubos y 40 tubos).

Se determinó la media, el sesgo medio y el sesgo absoluto de la adquisición con el BD FACS™ Universal Loader frente a la adquisición manual para las poblaciones indicadas. Consulte la tabla incluida a continuación.

Tabla 10 BD FACS™ Universal Loader vs. adquisición manual para BD OneFlow™ LST

Población	N	Media		% de sesgo absoluto (IC 95 %)	% de sesgo relativo (IC 95 %)
		Loader	Manual		
Leucocitos (% de singletes de SSC)	17	95,46	94,83	0,64 (0,07; 1,21)	0,7 (0,1; 1,3)
Linfocitos (% de leucocitos)	17	29,79	29,52	0,27 (–0,14; 0,68)	0,9 (–1,4; 3,2)
Células B (% de linfocitos)	17	20,39	20,48	–0,09 (–0,40; 0,22)	–0,8 (–6,0; 4,6)
Células sIgκ$^+$ (% de células B)	16	61,27	62,89	–0,47 (–1,79; 0,86)	0,6 (–3,8; 5,3)
Células sIgλ$^+$ (% de células B)	16	38,4	36,63	0,60 (–0,60; 1,79)	1,5 (–1,5; 4,6)
Células T (% de linfocitos)	17	68,08	68,2	–0,12 (–0,65; 0,42)	0,6 (–0,7; 1,8)

Población	N	Media		% de sesgo absoluto (IC 95 %)	% de sesgo relativo (IC 95 %)
		Loader	Manual		
Células TCRγδ$^+$ (% de linfocitos)	17	4,34	4,4	–0,06 (–0,28; 0,16)	0,9 (–6,4; 8,7)
CD4$^+$CD8$^-$ (% de células T)	17	45,99	45,95	0,05 (–0,46; 0,55)	0,2 (–1,1; 1,7)
CD8$^+$CD4$^-$ (% de células T)	17	44,61	44,31	0,30 (–0,21; 0,81)	0,9 (–0,5; 2,2)
Células NK (% de linfocitos)	17	9,86	10,08	–0,22 (–0,73; 0,29)	–3,0 (–9,4; 3,9)

Los resultados también fueron evaluados de forma cualitativa por un hematopatólogo para verificar la concordancia entre las muestras adquiridas de forma manual y las adquiridas con el Loader. Todas las muestras teñidas con BD OneFlow™ LST presentaron una concordancia del 100 %.

Precisión (dentro del centro, con material de control) (BD OneFlow™ LST en BD FACSLyric™)

Se realizó un estudio de precisión de 21 días en un solo centro para evaluar la precisión dentro del centro (repetibilidad y reproducibilidad) de BD OneFlow™ LST usando material de control. Se definieron estimaciones de precisión en los tres citómetros de flujo BD FACSLyric™ y un mínimo de tres operadores adquiriendo BD Multi-Check™ Control, teñido en duplicado por cada operador usando tres lotes de BD OneFlow™ LST. Cada operador realizó dos corridas separadas en cada uno de los 21 días de prueba.

Se identificaron 12 poblaciones de células como porcentaje de la población de origen. Se estimaron la repetibilidad (variabilidad dentro de la corrida) y la reproducibilidad (variabilidad entre corridas, entre días, entre operadores, entre lotes y entre instrumentos). En total, se analizaron 756 muestras. Se presentaron la desviación estándar (SD) media y el coeficiente de variación (% de CV) de cada población. Además, se calculó el límite de confianza del 95 % unilateral (SD superior o % de CV superior) correspondiente a la precisión dentro del centro.

Tabla 11 Resumen de la precisión dentro del centro de porcentajes de subconjuntos de BD OneFlow™ LST

Población (% de positivos)	Media	Repetibilidad		Reproducibilidad		Precisión dentro del centro	
		SD	% de CV	SD	% de CV	SD superior	% de CV superior
CD19$^+$	13,51	0,26	1,90	0,22	0,02	0,38	2,82
CD3$^+$	74,03	0,29	0,39	0,40	0,01	0,90	1,21
CD20$^+$	98,45	0,20	0,20	0,35	0,00	0,75	0,77
CD45$^+$	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Igκ$^+$	62,42	0,82	1,32	0,89	0,01	1,69	2,70
Igλ$^+$	37,41	0,83	2,21	0,90	0,02	1,73	4,62
TCRγ/δ$^+$	2,94	0,11	3,70	0,11	0,04	0,20	6,67
CD56$^+$	98,42	0,23	0,23	0,17	0,00	0,34	0,35
CD4$^+$	69,95	0,31	0,44	0,16	0,00	0,41	0,59

Población (% de positivos)	Media	Repetibilidad		Reproducibilidad		Precisión dentro del centro	
		SD	% de CV	SD	% de CV	SD superior	% de CV superior
$CD5^+$	74,33	0,28	0,38	0,61	0,01	1,64	2,21
$CD8^+$	27,10	0,30	1,11	0,49	0,02	1,37	5,07
$CD38^+$	47,53	0,64	1,34	5,34	0,11	6,26	13,17

Precisión (reproducibilidad, con material de control) (BD OneFlow™ LST en BD FACSLyric™)

Se realizó un estudio en tres centros para evaluar la reproducibilidad del sistema. Se utilizó un lote de BD OneFlow™ LST para teñir tres réplicas de BD Multi-Check™ Control. Un operador por centro realizó dos corridas por día en un citómetro de flujo BD FACSLyric™ a lo largo de un periodo de 5 días.

Se identificaron 12 poblaciones de células como porcentaje de la población de origen. Se estimaron la repetibilidad (variabilidad dentro de la corrida) y la reproducibilidad (variabilidad entre corridas, entre días y entre centros). Se presentaron la desviación estándar (SD) media y el coeficiente de variación (% de CV) de cada población. En total, se analizaron 90 muestras. Además, se calculó el límite de confianza del 95 % unilateral (SD superior o % de CV superior) correspondiente a la precisión general.

Tabla 12 Resumen de la precisión multicentro de porcentajes de subconjuntos de BD OneFlow™ LST

Población (% de positivos)	Media	Repetibilidad		Reproducibilidad		Precisión general	
		SD	% de CV	SD	% de CV	SD superior	% de CV superior
$CD19^+$	13,85	0,24	1,76	0,07	0,00	0,29	2,08
$CD3^+$	73,57	0,31	0,42	0,48	0,01	1,32	1,80
$CD20^+$	99,12	0,14	0,14	0,13	0,00	0,24	0,25
$CD45^+$	35,59	0,37	1,04	0,64	0,02	1,27	3,56
$Ig\kappa^+$	57,98	0,75	1,29	0,65	0,01	1,17	2,01
$Ig\lambda^+$	41,65	0,83	1,99	0,85	0,02	1,41	3,38
$TCR\gamma/\delta^+$	96,10	0,16	0,17	0,19	0,00	0,39	0,40
$CD56^+$	98,51	0,31	0,31	0,28	0,00	0,69	0,70
$CD4^+$	66,21	0,28	0,42	0,21	0,00	0,41	0,62
$CD5^+$	73,89	0,39	0,52	0,51	0,01	1,24	1,67
$CD8^+$	30,76	0,34	1,09	0,31	0,01	0,75	2,45
$CD38^+$	92,27	0,32	0,35	0,20	0,00	0,47	0,51

Capacidad de detección (BD OneFlow™ LST)

Se evaluó la capacidad de detección de BD OneFlow™ LST. Se agregó una muestra anormal a una muestra de sangre periférica hematológicamente normal de forma tal que la población anormal fuera del 0 %, 0,02 %, 0,05 % o 0,1 % de todos los eventos de la muestra normal. En el estudio se evaluaron dos conjuntos de muestras anormales y normales y dos lotes de BD OneFlow™ LST.

Tabla 13 Capacidad de detección de BD OneFlow™ LST

Muestra	Población diana	% de células anormales esperado	% de células anormales real medio (IC de 95 %)	SD de sesgo (IC de 95 % superior)	Proporción[a]
1	$CD45^{aten}$ $CD19^{+}$ $CD20^{aten}$ $Ig\kappa^{+}$ $CD5^{+}$	0,0	0,003 (0,004; 0,002)	0,001 (0,003)	0/0
		0,02	0,026 (0,030; 0,022)	0,005 (0,01)	10/10
		0,05	0,061 (0,067; 0,056)	0,008 (0,014)	10/10
		0,1	0,118 (0,130; 0,105)	0,017 (0,032)	10/10
2	$CD45^{aten}$ $CD19^{+}$ $CD20^{aten}$ $Ig\kappa^{+}$ $CD5^{+}$	0,0	0,00 (0,001; 0,000)	0,000 (0,001)	0/0
		0,02	0,018 (0,022; 0,014)	0,006 (0,01)	10/10
		0,05	0,043 (0,048; 0,037)	0,008 (0,014)	10/10
		0,1	0,111 (0,122; 0,100)	0,015 (0,028)	10/10

a. Número esperado/real de réplicas positivas.

De acuerdo con los resultados, se recomienda una capacidad de detección del 0,03 % de todos los eventos para BD OneFlow™ LST.

Citómetro de flujo BD FACSLyric™ (BD OneFlow™ B-CLPD T1)

Métodos comparativos: BD FACSLyric™ vs. citómetro de flujo BD FACSCanto™ II (BD OneFlow™ B-CLPD T1)

Se realizó una comparación de método entre el sistema BD OneFlow™ en el citómetro de flujo BD FACSLyric™ (método experimental) y el sistema BD OneFlow™ en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II (método comparativo) en 4 centros clínicos externos. El sistema BD OneFlow™ en BD FACSLyric™ incluye BD® CS&T Beads, BD® FC Beads 7-Color Kit, BD® FC Beads 5-Color Kit, BD OneFlow™ LST y BD OneFlow™ B-CLPD T1. Las muestras teñidas se adquirieron con un citómetro de flujo BD FACSLyric™ de 10 colores (4 azules, 3 rojos, 3 violetas) usando la aplicación BD FACSuite™ Clinical versión 1.3 *y el ensayo BD OneFlow™ B-CLPD T1. El sistema de referencia BD OneFlow™ en BD FACSCanto™ II consta de BD FACSDiva™ CS&T IVD Beads, BD OneFlow™ Setup Beads, BD® FC Beads 8-

Color Kit para ensayos BD OneFlow™ y BD OneFlow™ B-CLPD T1. Las muestras teñidas se adquirieron en un citómetro de flujo BD FACSCanto™ II (4-2H-2V) usando el software BD FACSDiva™ v8.0.2 y la plantilla BD OneFlow™ B-CLPD T1. En el estudio, se incorporaron en total 93 muestras de SP evaluables, 26 muestras de MO evaluables y 16 muestras de GL evaluables.

† Se realizó un estudio de regresión que demuestra la equivalencia entre la aplicación BD FACSuite™ Clinical versión 1.3 y la versión 1.4.

Las muestras se recolectaron en los anticoagulantes que se muestran. Consulte la tabla incluida a continuación.

Tabla 14 Anticoagulantes utilizados para recolectar las muestras

Tipo de muestra	Anticoagulante	
	EDTA	Heparina
SP	68	25
MO	23	3

Para las muestras de SP, MO y GL, el primer lavado se inició antes de transcurridas 23, 24 o 23 horas desde su recolección, respectivamente. Las muestras de SP, MO y GL teñidas se adquirieron antes de transcurridos 58, 49 o 34 minutos de la resuspensión final, respectivamente. Las muestras con poblaciones de células B aberrantes se identificaron como “CLL” u “Otro B-CLPD” (incluidos casos presuntos de CLL atípico) usando los dos sistemas. Las muestras se analizaron como “CLL” o “No CLL” usando los dos sistemas y se compararon. “No CLL” incluye “Otro B-CLPD”, T anormal, NK anormal y “normal” (normal para células T, células B y células NK). Además, las muestras se analizaron como “Otro B-CLPD” o “No otro B-CLPD” usando los dos sistemas y se compararon. “No otro B-CLPD” incluye CLL, T anormal, NK anormal y “normal” (normal para células T, células B y células NK).

La concordancia se calculó de la siguiente manera:

% de concordancia global = ((a+d)/(a+b+c+d))×100
% de concordancia positiva = (a/(a+c))×100
% de concordancia negativa = (d/(d+b))×100

donde,

a = número de muestras identificadas como “CLL” para ambos sistemas,
b = número de muestras identificadas como “CLL” en el citómetro de flujo BD FACSLyric™ pero como “No CLL” en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II,
c = número de muestras identificadas como “No CLL” en el citómetro de flujo BD FACSLyric™ pero como “CLL” en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II,
d = número de muestras identificadas como “No CLL” para ambos sistemas.

Se tabularon los resultados para las muestras identificadas como “CLL” o “No CLL”. Consulte la tabla incluida a continuación.

Tabla 15 Concordancia para las muestras identificadas como “CLL” o “No CLL”.

		Método de comparación (citómetro de flujo BD FACSCanto™ II)		
		CLL	No CLL	Total
Método experimental (citómetro de flujo BD FACSLyric™)	CLL	25	0	25
	No CLL	0	110	110
	Total	25	110	135

El % de concordancia global es del 100 %. El límite inferior del intervalo de confianza de 95 % es de 97,81 %.

La concordancia positiva para “CLL” es 100 %. La concordancia negativa para “No CLL” es 100 %.

También se calculó la concordancia usando las fórmulas que se describieron antes, donde

a = número de muestras identificadas como “Otro B-CLPD” para ambos sistemas,
b = número de muestras identificadas como “Otro B-CLPD” en el citómetro de flujo BD FACSLyric™ pero como “No Otro B-CLPD” en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II,
c = número de muestras identificadas como “No Otro B-CLPD” en el citómetro de flujo BD FACSLyric™ pero como “Otro B-CLPD” en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II,
d = número de muestras identificadas como “No Otro B-CLPD” para ambos sistemas.

Se tabularon los resultados para las muestras identificadas como “Otro B-CLPD” o “No Otro B-CLPD”. Consulte la tabla incluida a continuación.

Tabla 16 Concordancia para las muestras identificadas como "Otro B-CLPD" o "No Otro B-CLPD".

		Método de comparación (citómetro de flujo BD FACSCanto™ II)		
		Otro B-CLPD	No otro B-CLPD	Total
Método experimental (citómetro de flujo BD FACSLyric™)	Otro B-CLPD	27	0	27
	No otro B-CLPD	0	108	108
	Total	27	108	135

El % de concordancia global es del 100 %. El límite inferior del intervalo de confianza de 95 % es de 97,81 %.

La concordancia positiva para “Otro B-CLPD” es 100 %. La concordancia negativa para “No Otro B-CLPD” es 100 %.

Equivalencia: citómetro de flujo BD FACSLyric™ vs. BD FACSCanto™ II (BD OneFlow™ B-CLPD T1)

Se realizó una evaluación cualitativa de la intensidad fluorescente relativa, ya sea positiva o negativa, de los marcadores indicados en las células B aberrantes para cada muestra evaluable inscrita en el estudio de comparación de método. Las muestras se analizaron utilizando el sistema BD OneFlow™ en el citómetro de flujo BD FACSLyric™ y el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II como se describió anteriormente. Se calculó la concordancia global de los dos sistemas en la valoración de la expresión, ya sea positiva o negativa, de los marcadores indicados en las muestras. Consulte la tabla incluida a continuación.

Tabla 17 Concordancia para la expresión del marcador cualitativo en los citómetros de flujo BD FACSLyric™ y BD FACSCanto™ II

Marcador	Tubo de reactivo BD OneFlow™	% de concordancia en la expresión del marcador	CL inferior de 95 % del % de concordancia
CD5	LST	98,08	91,20
CD20	LST	100,0	94,4
CD20	B-CLPD T1	100,0	94,4
CD200	B-CLPD T1	100,0	94,4
CD23	B-CLPD T1	100,0	94,4
CD79b	B-CLPD T1	100,0	94,4
CD10	B-CLPD T1	100,0	94,4
CD43	B-CLPD T1	96,15	88,38

Los resultados de los estudios de comparación y equivalencia de métodos indican que los dos sistemas son sustancialmente equivalentes.

Método comparativo: BD FACS™ Universal Loader vs. adquisición manual (BD OneFlow™ B-CLPD T1)

Se realizó un estudio en un centro para demostrar la equivalencia entre la adquisición con el BD FACS™ Universal Loader y la adquisición manual. Las muestras de sangre periférica o médula ósea de sujetos normales y anormales se tiñeron usando un lote de BD OneFlow™ B-CLPD T1. Para cada muestra, se adquirieron 10 réplicas teñidas de forma manual o con el BD FACS™ Universal Loader (usando las gradillas de 30 tubos y 40 tubos).

Se determinó la media, el sesgo medio y el sesgo absoluto de la adquisición con el BD FACS™ Universal Loader frente a la adquisición manual para las poblaciones indicadas. Consulte la tabla incluida a continuación.

Tabla 18 BD FACS™ Universal Loader vs. adquisición manual para BD OneFlow™ B-CLPD T1

Población	N	Media		% de sesgo absoluto (IC 95 %)	% de sesgo relativo (IC 95 %)
		Loader	Manual		
Leucocitos (% de singletes de SSC)	17	93,56	92,89	0,67 (0,12; 1,22)	0,8 (0,2; 1,4)
Linfocitos (% de leucocitos)	17	27,84	27,84	0,00 (–0,71; 0,71)	0,2 (–2,3; 2,7)
Células B (% de linfocitos)	17	19,97	20,04	–0,06 (–0,46; 0,33)	0,4 (–2,6; 3,6)

Los resultados también fueron evaluados de forma cualitativa por un hematopatólogo para verificar la concordancia entre las muestras adquiridas de forma manual y las adquiridas con el Loader. Todas las muestras teñidas con BD OneFlow™ B-CLPD T1 presentaron una concordancia del 100 %.

Precisión (dentro del centro, con material de control) (BD OneFlow™ B-CLPD T1 en BD FACSLyric™)

Se realizó un estudio de precisión de 21 días en un solo centro para evaluar la precisión intracentro (repetibilidad y reproducibilidad) de BD OneFlow™ B-CLPD T1 usando material de control. Se definieron estimaciones de precisión en los tres citómetros de flujo BD FACSLyric™ y un mínimo de tres operadores adquiriendo CD-Chex Plus® control, teñido en duplicado por cada operador usando tres lotes de BD OneFlow™ B-CLPD T1. Cada operador realizó dos corridas separadas en cada uno de los 21 días de prueba.

Se identificaron ocho poblaciones de células como porcentaje de la población de origen. Se estimaron la repetibilidad (variabilidad dentro de la corrida) y la reproducibilidad (variabilidad entre corridas, entre días, entre operadores, entre lotes y entre instrumentos). En total, se analizaron 756 muestras. Se presentaron la desviación estándar (SD) media y el coeficiente de variación (% de CV) de cada población. Además, se calculó el límite de confianza del 95 % unilateral (SD superior o % de CV superior) correspondiente a la precisión dentro del centro.

Tabla 19 Resumen de la precisión intracentro de porcentajes de subconjuntos de BD OneFlow™ B-CLPD T1

Población (% de positivos)	Media	Repetibilidad		Reproducibilidad		Precisión dentro del centro	
		SD	% de CV	SD	% de CV	SD superior	% de CV superior
CD43+	85,73	0,20	0,24	0,23	0,00	0,43	0,51
CD45+	42,16	1,15	2,72	0,53	0,01	1,34	3,19
CD10+	97,87	0,22	0,23	0,34	0,00	0,72	0,73
CD79b+	13,45	0,19	1,44	0,46	0,03	1,31	9,77
CD19+	13,91	0,19	1,39	0,08	0,01	0,23	1,63
CD20+	13,68	0,19	1,41	0,27	0,02	0,62	4,55
CD200+	11,00	0,17	1,56	0,25	0,02	0,54	4,92
CD23+	12,91	0,19	1,51	0,61	0,05	1,92	14,85

Precisión (reproducibilidad, con material de control) (BD OneFlow™ B-CLPD T1 en BD FACSLyric™)

Se realizó un estudio en tres centros para evaluar la reproducibilidad del sistema. Se utilizó un lote de BD OneFlow™ B-CLPD T1 para teñir tres réplicas de CD-Chex Plus® control. Un operador por centro realizó dos corridas por día en un citómetro de flujo BD FACSLyric™ a lo largo de un periodo de 5 días.

Se identificaron ocho poblaciones de células como porcentaje de la población de origen. Se estimaron la repetibilidad (variabilidad dentro de la corrida) y la reproducibilidad (variabilidad entre corridas, entre días y entre centros). En total, se analizaron 90 muestras. Se presentaron la desviación estándar (SD) media y el coeficiente de variación (% de CV) de cada población. Además, se calculó el límite de confianza del 95 % unilateral (SD superior o % de CV superior) correspondiente a la precisión general.

Tabla 20 Resumen de la precisión multicentro de porcentajes de subconjuntos de BD OneFlow™ B-CLPD T1

Población (% de positivos)	Media	Repetibilidad		Reproducibilidad		Precisión general	
		SD	% de CV	SD	% de CV	SD superior	% de CV superior
CD43+	86,20	0,20	0,23	0,29	0,00	0,80	0,92
CD45+	39,06	0,43	1,10	0,73	0,02	1,11	2,84
CD10+	97,89	0,71	0,73	0,63	0,01	1,50	1,53
CD79b+	13,10	0,21	1,63	0,21	0,02	0,49	3,75
CD19+	13,26	0,21	1,56	0,16	0,01	0,39	2,96
CD20+	13,15	0,21	1,59	0,19	0,01	0,46	3,52
CD200+	10,24	0,18	1,75	0,28	0,03	0,75	7,36
CD23+	12,92	0,21	1,65	0,13	0,01	0,32	2,50

Capacidad de detección (BD OneFlow™ B-CLPD T1)

Se evaluó la capacidad de detección de BD OneFlow™ B-CLPD T1. Se agregó una muestra anormal a una muestra de sangre periférica hematológicamente normal de forma tal que la población anormal fuera del 0 %, 0,02 %, 0,05 % o 0,1 % de todos los eventos de la muestra normal. En el estudio se evaluaron dos conjuntos de muestras anormales y normales y dos lotes de BD OneFlow™ B-CLPD T1.

Tabla 21 Capacidad de detección de BD OneFlow™ B-CLPD T1

Muestra	Población diana	% de células anormales esperado	% de células anormales real medio (IC de 95 %)	SD de sesgo (IC de 95 % superior)	Proporción[a]
1	$CD45^{aten}$ $CD19^{+}$ $CD20^{aten}$ CD43+ CD200+	0,0	0 (0,000; 0,000)	0 (0,001)	0/0
		0,02	0,027 (0,031; 0,022)	0,006 (0,011)	10/10
		0,05	0,054 (0,061; 0,046)	0,010 (0,019)	10/10

Muestra	Población diana	% de células anormales esperado	% de células anormales real medio (IC de 95 %)	SD de sesgo (IC de 95 % superior)	Proporción[a]
		0,1	0,111 (0,123; 0,099)	0,016 (0,030)	10/10
2	$CD45^{aten}$ $CD19^{+}$ $CD20^{aten}$ CD43+ CD200+	0,0	0 (0,001; 0,000)	0 (0,001)	0/0
		0,02	0,02 (0,023; 0,018)	0,003 (0,006)	10/10
		0,05	0,053 (0,058; 0,048)	0,007 (0,012)	10/10
		0,1	0,102 (0,110; 0,093)	0,012 (0,022)	10/10

a. Número esperado/real de réplicas positivas.

De acuerdo con los resultados, se recomienda una capacidad de detección del 0,03 % de todos los eventos de BD OneFlow™ B-CLPD T1.

Citómetro de flujo BD FACSCanto™ II (BD OneFlow™ LST)

Comparación de métodos: citómetro de flujo BD FACSCanto™ II vs. sistema EuroFlow (BD OneFlow™LST)

Se realizó una comparación directa entre el sistema BD OneFlow™ LST en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II y el sistema EuroFlow LST en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II en tres centros clínicos externos. El sistema BD OneFlow™ LST consta de BD OneFlow™ Setup Beads, BD® FC Beads para compensación y el reactivo BD OneFlow™ LST. El sistema de referencia EuroFlow LST consta de Sphero™ Rainbow callibraton particles o partículas de calibración (8 picos), células teñidas de un solo color más BD® Multicolor CompBeads para compensación y la mezcla de reactivos EuroFlow LST. Ambos métodos emplearon BD FACSDiva™ CS&T IVD Beads para realizar el control de calidad del instrumento. Se identificaron poblaciones de linfocitos maduros anormales de 81 pacientes con neoplasias de células B, 35 pacientes con neoplasias de células T y 6 pacientes con neoplasias de células NK utilizando los dos sistemas, y se compararon. Además, se identificaron 9 muestras como pertenecientes a otros linajes, por ejemplo, trastornos de células plasmáticas o muestras bifenotípicas. Utilizando los dos sistemas, se identificaron poblaciones de células de 76 muestras negativas, incluidos 19 donantes sanos. En el estudio, se inscribió un total de 123 muestras de SP, 53 muestras de MO y 31 muestras de GL frescas. Las muestras de SP y MO se tiñeron antes de transcurridas 24 horas de su recolección. Las muestras de GL se tiñeron antes de transcurridas 6 horas de su recolección. Todas las muestras teñidas se adquirieron antes de transcurrida 1 hora de la tinción. Las muestras identificaron como “Se requiere seguimiento” o “No se requiere seguimiento” usando los dos sistemas y se compararon.

La concordancia se calculó de la siguiente manera:

% de concordancia global = ((a+d)/(a+b+c+d))×100

donde,

a = número de muestras identificadas como “Se requiere seguimiento” para ambos sistemas

b = número de muestras identificadas como “Se requiere seguimiento” para el sistema BD OneFlow™, pero identificadas como “No se requiere seguimiento” para el sistema EuroFlow,
c = número de muestras identificadas como “No se requiere seguimiento” para el sistema BD OneFlow™, pero identificadas como “Se requiere seguimiento” para el sistema EuroFlow y
d = número de muestras identificadas como “No se requiere seguimiento” para ambos sistemas

Los resultados para todos los tipos de células se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 22 Concordancia para todas las células identificadas como “Se requiere seguimiento” o “No se requiere seguimiento”

		Método de comparación (mezcla Euroflow LST)		
		Se requiere seguimiento	No se requiere seguimiento	Total
Método de investigación (BD OneFlow™ LST)	Se requiere seguimiento	131	0	131
	No se requiere seguimiento	0	76	76
	Total	131	76	207

El % de concordancia global es del 100 %. El límite inferior del intervalo de confianza de 95 % es de 98,6 %.

Los resultados para las células T se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 23 Concordancia para las células T identificadas como “Se requiere seguimiento” o “No se requiere seguimiento”

		Método de comparación (mezcla Euroflow LST)		
		Se requiere seguimiento	No se requiere seguimiento	Total
Método de investigación (BD OneFlow™ LST)	Se requiere seguimiento	35	0	35
	No se requiere seguimiento	0	172	172
	Total	35	172	207

El % de concordancia global es del 100 %. El límite inferior del intervalo de confianza de 95 % es de 98,6 %.

Los resultados para las células B se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 24 Concordancia para las células B identificadas como “Se requiere seguimiento” o “No se requiere seguimiento”

		Método de comparación (mezcla Euroflow LST)		
		Se requiere seguimiento	No se requiere seguimiento	Total
Método de investigación (BD OneFlow™ LST)	Se requiere seguimiento	81	0	81
	No se requiere seguimiento	0	126	126
	Total	81	126	207

El % de concordancia global es del 100 %. El límite inferior del intervalo de confianza de 95 % es de 98,6 %.

Los resultados para las células NK se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 25 Concordancia para las células NK identificadas como “Se requiere seguimiento” o “No se requiere seguimiento”[a]

		Método de comparación (mezcla Euroflow LST)		
		Se requiere seguimiento	No se requiere seguimiento	Total
Método de investigación (BD OneFlow™ LST)	Se requiere seguimiento	6	0	6
	No se requiere seguimiento	0	201	201
	Total	6	201	207

a. Las neoplasias de células NK son poco frecuentes; por lo tanto, el número esperado de muestras es muy bajo.

El % de concordancia global es del 100 %. El límite inferior del intervalo de confianza de 95 % es de 98,6 %.

Equivalencia: citómetro de flujo BD FACSCanto™ II vs. sistema EuroFlow (BD OneFlow™ LST)

Las muestras de sangre periférica, médula ósea y ganglios linfáticos recolectadas en tres laboratorios clínicos externos se obtuvieron de pacientes con anormalidades de células T, células B o células NK, o sin anormalidades hematológicas. Las muestras se analizaron utilizando el sistema BD OneFlow™ LST y el sistema EuroFlow LST antes descritos.

El sesgo para los leucocitos identificados como porcentaje de singletes de SSC se resume en la siguiente tabla.

Tabla 26 Resumen de sesgo para leucocitos (% de singletes SSC)

Población	N.º de muestras	Sesgo promedio	CL inferior de 95 % del sesgo promedio	CL superior de 95 % del sesgo promedio
Leucocitos (% de singletes de SSC)	207	–1,1 %	–1,7 %	–0,6 %

Las ocho poblaciones de células restantes se identificaron como un porcentaje de las poblaciones de células indicadas en la siguiente tabla. Las estadísticas de regresión de Deming indican que los resultados obtenidos con los dos sistemas son sustancialmente equivalentes.

Tabla 27 Equivalencia del sistema BD OneFlow™ con el sistema EuroFlow

Población	N.º de muestras	Ordenada	Pendiente	CL inferior de 95 % del sesgo promedio	CL superior de 95 % del sesgo promedio
Linfocitos (% de leucocitos)	207	–0,68	1,01	1,00	1,02
Células T (% de linfocitos)	207	1,07	0,99	0,98	1,00
Células $CD4^+CD8^-$ (% de células T)	207	–0,64	1,01	1,00	1,02
Células $CD8^+CD4^-$ (% de células T)	207	–0,45	1,00	0,99	1,01
Células B (% de linfocitos)	207	–0,01	1,00	0,99	1,00
Células NK (% de linfocitos)	207	0,81	0,92	0,84	1,00
Células $smIg\kappa^+$ (% de células B)	206[a]	2,24	1,00	0,97	1,02
Células $smIg\lambda^+$ (% de células B)	206[a]	–2,04	1,00	0,98	1,03

a. La muestra de un paciente registró 0 y 2 eventos de células B en los dos sistemas, respectivamente. Debido a que en este estudio smIgκ y smIgλ se definen como un porcentaje de eventos de células B, no se pudieron definir en uno de los sistemas y, por lo tanto, no se pudieron incluir en el análisis de smIgκ y smIgλ correspondiente a esa muestra.

Precisión (reproducibilidad) (BD OneFlow™ LST en BD FACSCanto™ II)

Dos operadores realizaron dos corridas separadas por día a lo largo de un período de 8 días, alternando las corridas en dos citómetros de flujo BD FACSCanto™ II. Para cada corrida, cada operador tiñó muestras duplicadas de BD Multi-Check™ Control usando tres lotes de BD OneFlow™ LST y, luego, se adquirieron y analizaron usando la plantilla de BD OneFlow™ LST en el software BD FACSDiva™. Se identificaron 9 poblaciones de células como un porcentaje de las poblaciones de células que se indican en la siguiente tabla. Se calculó la reproducibilidad de los porcentajes de subpoblaciones para cada una de las poblaciones

de células. La reproducibilidad consta de cuatro componentes: reproducibilidad de operador/instrumento a operador/instrumento, de lote a lote, de corrida a corrida y de día a día.

Tabla 28 Reproducibilidad de los porcentajes de subpoblaciones

Población	Media	SD[a]	CL[b] superior de 95 % de la SD	% de CV[c]	CL superior de 95 % del % de CV
Leucocitos (% de singletes de SSC)	100,0	0,01	0,03	0,01	0,03
Linfocitos (% de leucocitos)	37,9	0,5	1,1	1,2	2,9
Células T (% de linfocitos)	70,3	0,2	0,3	0,3	0,5
Células $CD4^+CD8^-$ (% de células T)	63,4	0,5	1,5	0,8	2,4
Células $CD8^+CD4^-$ (% de células T)	25,1	1,1	3,2	4,4	12,8
Células B (% de linfocitos)	14,8	0,2	1,0	1,5	6,5
Células NK (% de linfocitos)	14,8	0,3	0,8	1,9	5,6
Células $smIg\kappa^+$ (% de células B)	59,4	0,2	3,1	0,3	5,2
Células $smIg\lambda^+$ (% de células B)	40,6	0,2	2,8	0,4	6,8

a. SD = Desviación estándar

b. CL = Límite del intervalo de confianza

c. % de CV = Coeficiente de variación porcentual

Precisión (repetibilidad) (BD OneFlow™ LST en BD FACSCanto™ II)

Dos operadores realizaron dos corridas separadas por día a lo largo de un período de 8 días, alternando las corridas en dos citómetros de flujo BD FACSCanto™ II. Para cada corrida, cada operador tiñó muestras duplicadas de BD Multi-Check™ Control usando tres lotes de BD OneFlow™ LST y, luego, se adquirieron y analizaron usando la plantilla de BD OneFlow™ LST en el software BD FACSDiva™. Se identificaron 9 poblaciones de células como un porcentaje de las poblaciones de células que se indican en la siguiente tabla. Se calculó la precisión intracorrida (repetibilidad de tubo a tubo) de los porcentajes de subpoblaciones para cada una de las poblaciones de células.

Tabla 29 Repetibilidad de los porcentajes de subconjuntos

Población	Media	SD	CL superior de 95 % de la SD	% de CV	CL superior de 95 % del % de CV
Leucocitos (% de singletes de SSC)	100,0	0,03	0,03	0,03	0,03
Linfocitos (% de leucocitos)	37,9	0,5	0,5	1,3	1,4
Células T (% de linfocitos)	70,3	0,4	0,4	0,5	0,6

Población	Media	SD	CL superior de 95 % de la SD	% de CV	CL superior de 95 % del % de CV
Células $CD4^+CD8^-$ (% de células T)	63,4	0,5	0,6	0,8	0,9
Células $CD8^+CD4^-$ (% de células T)	25,1	0,7	0,8	3,0	3,2
Células B (% de linfocitos)	14,8	0,3	0,3	1,8	2,0
Células NK (% de linfocitos)	14,8	0,3	0,3	2,1	2,3
Células $smIg\kappa^+$ (% de células B)	59,4	0,8	0,8	1,3	1,4
Células $smIg\lambda^+$ (% de células B)	40,6	0,8	0,8	1,9	2,1

Citómetro de flujo BD FACSCanto™ II (BD OneFlow™ B-CLPD T1)

Comparación de métodos: citómetro de flujo BD FACSCanto™ II frente a sistema EuroFlow (BD OneFlow™ B-CLPD T1)

Se realizó una comparación directa entre el sistema BD OneFlow™ en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II y el sistema EuroFlow en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II en 4 centros clínicos externos. El sistema BD OneFlow™ consta de BD OneFlow™ Setup Beads, BD® FC Beads para compensación, el reactivo BD OneFlow™ LST y el reactivo BD OneFlow™ B-CLPD T1. El sistema de referencia EuroFlow consta de Sphero™ Rainbow calibration particle o partículas de calibración (8 picos), células teñidas de un solo color más partículas BD® CompBead para compensación y las mezclas correspondientes de reactivos EuroFlow. Ambos métodos emplearon BD FACSDiva™ CS&T IVD Beads para realizar el control de calidad del instrumento. Utilizando los dos sistemas, se identificaron y compararon poblaciones de células B maduras anormales de 54 pacientes con CLL y de 47 pacientes con otros trastornos de las células B, incluidos presuntos casos de CLL atípica. El estudio incluyó un total de 70 muestras de SP y 31 muestras de MO. Las muestras de SP y MO se tiñeron antes de transcurridas 26 horas de su recolección. Todas las muestras teñidas se adquirieron antes de transcurridos 66 minutos de la tinción. Las muestras con células B que requirieron seguimiento se clasificaron como CLL u otro trastorno de células B.

La concordancia se calculó de la siguiente manera:

% de concordancia global = ((a+d)/(a+b+c+d))×100

donde,

a = número de muestras clasificadas como CLL para ambos sistemas,
b = número de muestras clasificadas como CLL para el sistema BD OneFlow™, pero clasificadas como otro trastorno de células B para el sistema EuroFlow,
c = número de muestras clasificadas como otro trastorno de células B para el sistema BD OneFlow™, pero clasificada como CLL para el sistema EuroFlow y
d = número de muestras clasificadas como otro trastorno de células B para ambos sistemas.

Se tabularon los resultados para las muestras clasificadas como CLL u otro trastorno de células B. Consulte la tabla incluida a continuación.

Tabla 30 Concordancia para las células B que requirieron seguimiento como CLL u otro trastorno de células B

		Método de comparación (mezcla Euroflow LST)		
		CLL	Otro trastorno de células B	Total
Método de investigación (sistema BD OneFlow™)	CLL	54	0	54
	Otro trastorno de células B	0	47	47
	Total	54	47	101

El % de concordancia global es del 100 %. El límite inferior del intervalo de confianza de 95 % es de 97,1 %.

Equivalencia: citómetro de flujo BD FACSCanto™ II frente a sistema EuroFlow (BD OneFlow™ B-CLPD T1)

Las muestras con células B $CD45^{+}CD19^{+}$ para las que se identificó que requerían seguimiento usando el tubo BD OneFlow™ LST se caracterizaron adicionalmente según la expresión de marcadores específicos. Las muestras se analizaron utilizando el sistema BD OneFlow™ y el sistema EuroFlow correspondiente antes descrito. Se calculó la concordancia de los dos sistemas en la valoración de la expresión, ya sea positiva o negativa, de los marcadores indicados en las células B aberrantes. Consulte la tabla incluida a continuación.

Tabla 31 Equivalencia del sistema BD OneFlow™ con el sistema EuroFlow

Marcador	**Tubo de reactivo BD OneFlow™**	**% de concordancia en la expresión del marcador**	**CL inferior de 95 % del % de concordancia**
CD5	LST	98,0 %	93,9 %
CD20	LST	100,0 %	97,1 %
CD20	B-CLPD T1	100,0 %	97,1 %
CD200	B-CLPD T1	100,0 %	97,1 %
CD23	B-CLPD T1	100,0 %	97,1 %
CD79b	B-CLPD T1	99,0 %	95,4 %

Los resultados de los estudios de comparación y equivalencia de métodos indican que los dos sistemas son sustancialmente equivalentes.

Precisión (reproducibilidad) (BD OneFlow™ B-CLPD T1 en BD FACSCanto™ II)

Dos operadores realizaron dos corridas separadas por día a lo largo de un período de 8 días, alternando las corridas en dos citómetros de flujo BD FACSCanto™ II. Para cada corrida, cada operador tiñó muestras duplicadas de CD-Chex Plus® BC usando tres lotes de BD OneFlow™ B-CLPD T1 y, luego, se adquirieron y analizaron usando la plantilla de BD OneFlow™ B-CLPD T1 en el software BD FACSDiva™. Se identificaron las tres poblaciones restantes de células como un porcentaje de las poblaciones de células indicadas en la

tabla 32. Se calculó la reproducibilidad de los porcentajes de subpoblaciones para cada una de las poblaciones de células. La reproducibilidad consta de cuatro componentes: reproducibilidad de operador/instrumento a operador/instrumento, de lote a lote, de corrida a corrida y de día a día.

Tabla 32 Reproducibilidad de los porcentajes de subpoblaciones

Población	Media	SD[a]	CL[b] superior de 95 % de la SD	% de CV[c]	CL superior de 95 % del % de CV
Leucocitos (% de singletes de SSC)	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Linfocitos (% de leucocitos)	36,94	1,23	1,40	3,34	3,74
Células B (% de linfocitos)	12,45	0,19	0,22	1,53	1,71

a. SD = Desviación estándar

b. CL = Límite del intervalo de confianza

c. % de CV = Coeficiente de variación porcentual

Precisión (repetibilidad) (BD OneFlow™ B-CLPD T1 en BD FACSCanto™ II)

Dos operadores realizaron dos corridas separadas por día a lo largo de un período de 8 días, alternando las corridas en dos citómetros de flujo BD FACSCanto™ II. Para cada corrida, cada operador tiñó muestras duplicadas de CD-Chex Plus BC usando tres lotes de BD OneFlow™ B-CLPD T1 y, luego, se adquirieron y analizaron usando la plantilla de BD OneFlow™ B-CLPD T1 en el software BD FACSDiva™. Se identificaron tres poblaciones de células como un porcentaje de las poblaciones de células que se indican en la siguiente tabla. Se calculó la precisión intracorrida (repetibilidad de tubo a tubo) de los porcentajes de subpoblaciones para cada población de células.

Tabla 33 Repetibilidad de los porcentajes de subconjuntos

Población	Media	SD	CL superior de 95 % de la SD	% de CV	CL superior de 95 % del % de CV
Leucocitos (% de singletes de SSC)	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Linfocitos (% de leucocitos)	36,94	0,40	0,45	1,08	1,21
Células B (% de linfocitos)	12,45	0,19	0,22	1,52	1,70

10. RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Problemas con la preparación o tinción de células

Problema	Posible causa	Solución
La resolución entre los residuos y los linfocitos es deficiente.	La muestra se lisó de manera deficiente.	Prepare y tiña otra muestra.
	La muestra es de mala calidad.	Compruebe la viabilidad celular.

Problema	Posible causa	Solución
	La muestra tiene demasiado tiempo.	Obtenga una nueva muestra y tíñala de inmediato.
La tinción es débil o se desvanece.	La concentración celular fue demasiado alta en la etapa de tinción.	Verifique la concentración celular y ajústela según sea necesario.
	La muestra lavada no se tiñó antes de transcurridos 30 minutos después del último lavado.	Repita la tinción con una muestra recién preparada.
	El tubo de reactivo se dejó expuesto a la luz durante demasiado tiempo.	Repita la tinción con un nuevo tubo de reactivo.
	Las células teñidas se almacenaron durante demasiado tiempo antes de adquirirlas.	Repita la tinción con una nueva muestra y adquiérala rápidamente.
Se registraron pocas o ninguna célula.	La concentración celular fue demasiado baja.	Centrifugue la muestra y vuelva a suspenderla a una concentración más alta. Repita la tinción y la adquisición.
	El citómetro está fallando.	Solucione los problemas del instrumento. Consulte las instrucciones de uso del citómetro para obtener más información.

Problemas con el uso del reactivo en los citómetros de flujo BD FACSLyric™:

Problema	Posible causa	Solución
No se adquirió la cantidad suficiente de células de interés.	La concentración celular fue demasiado baja.	Centrifugue la muestra y vuelva a suspenderla a una concentración más alta. Repita la tinción y la adquisición.
	La configuración predeterminada de 100.000 eventos adquiridos es demasiado baja.	Cambie la cantidad de eventos adquiridos. Repita la tinción y la adquisición. Consulte la *Guía de aplicación de BD OneFlow™ para trastornos linfoproliferativos crónicos para los citómetros de flujo BD FACSLyric™*.

Problema	Posible causa	Solución
El gráfico de puntos de FSC-A frente a SSC-A es anormal.	El citómetro necesita ajustes.	Póngase en contacto con BD Biosciences.
El archivo CSV y el informe no se exportan de forma automática.	El número de lote del reactivo y la fecha de caducidad no se agregaron a la Biblioteca.	1. Agregue el número de lote del reactivo y la fecha de caducidad a la Biblioteca. 2. Exporte el archivo CSV y el PDF del informe de forma manual. Consulte las *Instrucciones de uso del sistema BD FACSLyric™*.

Problemas con el uso de los reactivos en los citómetros de flujo BD FACSCanto™ II

Problema	Posible causa	Solución
La resolución entre los residuos y los linfocitos es deficiente.	La configuración del instrumento es inapropiada.	Siga los procedimientos correspondientes de configuración del instrumento. Consulte la *Guía de configuración de instrumentos para ensayos BD OneFlow™*.
Algunos de los gráficos de puntos están atenuados.	No se seleccionaron FSC-H y SSC-H cuando se creó la configuración de la aplicación.	Verifique que FSC-H y SSC-H estén seleccionados en la pestaña Parameters (Parámetros) del Inspector (Inspector).
No se puede escanear el código de barras que aparece en la etiqueta del tubo BD OneFlow™.	Se ha vulnerado el código de barras en la etiqueta del tubo.	Escanee el código de barras que aparece en la etiqueta de la bolsa del BD OneFlow™ para ingresarlo al campo de palabra clave Product ID (ID de producto) en el Experiment Layout (Diseño del experimento). Luego, después del último dígito del código de barras, ingrese manualmente un punto y coma (;) seguido del ID de seis dígitos específico del tubo, que se encuentra al lado del código de barras que aparece en la etiqueta del tubo.
No aparecen los gráficos de puntos en las hojas de trabajo o los gráficos de puntos no tienen regiones.	No se importó correctamente la plantilla.	1. Cierre el experimento actual. 2. Cree un nuevo experimento. 3. Vuelva a importar la plantilla del BD OneFlow™ LST.
Algunas de las palabras clave no aparecen en el recuadro de estadísticas en la hoja de trabajo de análisis.	El software BD FACSDiva™ no importó todas las palabras clave a la plantilla del panel.	1. En el Browser (Navegador), coloque el puntero del tubo actual en el tubo que esté analizando.

Problema	Posible causa	Solución
		2. Navegue a la hoja de trabajo de análisis. 3. Haga clic con el botón derecho en el recuadro de estadísticas y seleccione Edit Stats View (Editar vista de estadísticas). 4. En la pestaña Header (Encabezado), seleccione la casilla All (Todos). 5. Haga clic en **OK** (Aceptar).
El enunciado For in vitro diagnostic use (Para uso diagnóstico in vitro) no aparece en la hoja de trabajo de análisis cuando se imprime.	Se cambiaron los márgenes del papel en la configuración de la impresora.	1. Desde la barra de menú del software BD FACSDiva™, seleccione **File > Page Setup** (Archivo > Configuración de página). 2. Asegúrese de que todos los márgenes se establezcan en 2,54 cm o 1 pulgada, según la unidad de medida predeterminada. 3. Haga clic en **OK** (Aceptar).

REFERENCIAS

1. van Dongen JJ, Lhermitte L, Böttcher S, et al. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia*. 2012;26:1908-1975.
2. Bernard A, Boumsell L, Hill C. Joint report of the first international workshop on human leucocyte differentiation antigens by the investigators of the participating laboratories. In: Bernard A, Boumsell L, Dausset J, Milstein C, Schlossman SF, eds. *Leucocyte Typing*. New York, NY: Springer-Verlag; 1984:9-108.
3. Lanier LL, Le AM, Civin CI, Loken MR, Phillips JH. The relationship of CD16 (Leu-11) and Leu-19 (NKH-1) antigen expression on human peripheral blood NK cells and cytotoxic T lymphocytes. *J Immunol.* 1986;136:4480-4486.
4. Ritz J, Trinchieri G, Lanier LL. NK-cell antigens: section report. In: Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, et al, eds. *Leucocyte Typing V: White Cell Differentiation Antigens.* Vol 2. New York, NY: Oxford University Press; 1995:1367-1372.
5. Engleman EG, Warnke R, Fox RI, Dilley J, Benike CJ, Levy R. Studies of a human T lymphocyte antigen recognized by a monoclonal antibody. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1981;78:1791-1795.
6. Knowles RW. Immunochemical analysis of the T-cell-specific antigens. In: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID, eds. *Leukocyte Typing II: Human T Lymphocytes.* Vol 1. New York, NY: Springer-Verlag; 1986:259-288.
7. Ling NR, Maclennan ICM, Mason DY. B-cell and plasma cell antigens: new and previously defined clusters. In: McMichael AJ, Beverley PC, Cobbold S, et al, eds. *Leucocyte Typing III: White Cell Differentiation Antigens.* New York, NY: Oxford University Press; 1987:302-335.

8. Nadler LM. B Cell/Leukemia Panel Workshop: Summary and Comments. In: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID, eds. *Leukocyte Typing II: Human B Lymphocytes.* Vol 2. New York, NY: Springer-Verlag; 1986;3-43.
9. Cobbold SP, Hale G, Waldmann H. Non-lineage, LFA-1 family, and leucocyte common antigens: new and previously defined clusters. In: McMichael AJ, Beverley PC, Cobbold S, et al, eds. *Leucocyte Typing III: White Cell Differentiation Antigens.* New York, NY: Oxford University Press; 1987:788-803.
10. Appendix C. Summary of antibody names, code numbers, and donor laboratories. In: McMichael AJ, Beverley PC, Cobbold S, et al, eds. *Leucocyte Typing III: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1987:988-993.
11. Kubagawa H, Gathings WE, Levitt D, Kearney JF, Cooper MD. Immunoglobulin isotype expression of normal pre-B cells as determined by immunofluorescence. *J Clin Immunol*. 1982;2(4):264-269.
12. Borst J, van Dongen J, Bolhuis R, et al. Distinct molecular forms of human T cell receptor γ/δ detected on viable T cells by a monoclonal antibody. *J Exp Med*. 1988;167:1625-1644.
13. Ichinohasama R, Miura I, Takahashi T, et al. Peripheral CD4+ CD8– γδ T cell lymphoma: a case report with multiparameter analyses. *Hum Pathol*. 1996;27:1370-1377.
14. Sarfati M, Ishihara H, Delespesse G. CD23 Workshop Panel report. In: Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, et al, eds. *Leucocyte Typing V: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1995:530-533.
15. Zola H. CD10 Workshop Panel report. In: Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, et al, eds. *Leucocyte Typing V: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1995:505-507.
16. Engel P, Wagner N, Tedder TF. CD79 Workshop report. In: Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, et al, eds. *Leucocyte Typing V: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1995:667-679.
17. Cerný J, Angelisová P, Horejší V. Non-lineage Panel—Analysis by Western blotting. In: Mason D, André P, Bensussan A, et al, eds. *Leucocyte Typing VII: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 2002:458.
18. Hilgert I, Drbal K. Non-lineage Panel—Analysis by cytofluorometry. In: Mason D, André P, Bensussan A, et al, eds. *Leucocyte Typing VII: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 2002:459-461.
19. Horejší V, Stockinger H. CD43 Workshop Panel report. In: Kishimoto H, Kikutani H, von dem Borne AEGK, et al, eds. *Leucocyte Typing VI: White Cell Differentiation Antigens. New York: Garland Publishing, Inc.*; 1998:494-497.
20. *Collection of Diagnostic Venous Blood Specimens*, *7th ed.* Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017. CLSI document GP41.
21. Rothe G, Schmitz G. Consensus protocol for the flow cytometric immunophenotyping of hematopoietic malignancies. *Leukemia*. 1996;10:877-895.
22. Stelzer GT, Marti G, Hurley A, McCoy PJ, Lovett EJ, Schwartz A. US-Canadian consensus recommendations on the immunophenotypic analysis of hematologic neoplasia by flow cytometry: standardization and validation of laboratory procedures. *Cytometry*. 1997;30:214-230.
23. *Clinical Flow Cytometric Analysis of Neoplastic Hematolymphoid Cells; Approved Guideline—Second Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007. CLSI document H43-A2.
24. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline—Fourth Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014. CLSI document M29-A4.
25. Centers for Disease Control and Prevention. 2007 Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Healthcare Settings. https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/isolation/index.html. Accessed March 12, 2019.

NOTIFICACIÓN

Solo en la UE: los usuarios deben informar cualquier incidente grave relacionado con el dispositivo al fabricante y a la autoridad nacional competente.

Fuera de la Unión Europea: En caso de cualquier incidente o consulta relacionada con este dispositivo, póngase en contacto con el representante de BD de su localidad.

Visite el sitio web de Eudamed: https://ec.europa.eu/tools/eudamed, para obtener el resumen de seguridad y rendimiento.

GARANTÍA

A menos que se indique lo contrario en cualquiera de las condiciones generales de venta de BD aplicables a clientes no estadounidenses, la siguiente garantía es aplicable a la compra de estos productos.

SE GARANTIZA ÚNICAMENTE QUE LOS PRODUCTOS VENDIDOS CONFORME AL PRESENTE SE AJUSTAN A LA CANTIDAD Y AL CONTENIDO INDICADOS EN LA ETIQUETA O EN EL ETIQUETADO DEL PRODUCTO, EN EL MOMENTO DE SU ENTREGA AL CLIENTE. POR LA PRESENTE, BD SE DESLINDA DE TODAS LAS DEMÁS GARANTÍAS, EXPRESAS O IMPLÍCITAS, INCLUIDAS LAS GARANTÍAS DE COMERCIABILIDAD Y ADECUACIÓN PARA CUALQUIER PROPÓSITO EN PARTICULAR Y DE NO INFRACCIÓN. LA ÚNICA RESPONSABILIDAD DE BD QUEDA LIMITADA YA SEA A LA REPOSICIÓN DE LOS PRODUCTOS O AL REEMBOLSO DEL PRECIO DE COMPRA. BD NO ES RESPONSABLE DE DAÑOS MATERIALES NI DE NINGÚN DAÑO INCIDENTAL O CONSECUENTE, INCLUIDOS DAÑOS PERSONALES O PÉRDIDAS ECONÓMICAS, CAUSADOS POR EL PRODUCTO.

PATENTES Y MARCAS COMERCIALES

Para conocer las patentes de EE. UU. que pueden aplicarse, consulte bd.com/patents.

BD, el logo de BD, BD FACSDiva, BD FACSLyric, BD FACSuite, BD Multi-Check, BD OneFlow, FACS, FACSCanto, Horizon y Vacutainer son marcas comerciales de Becton, Dickinson and Company o de sus afiliados. Todas las otras marcas comerciales son propiedad de sus respectivos dueños. © 2023 BD. Todos los derechos reservados.

Cy™ es una marca comercial de GE Healthcare. Este producto está sujeto a los derechos de propiedad exclusiva de GE Healthcare y Carnegie Mellon University y se fabrica y vende bajo licencia de GE Healthcare. La licencia de este producto solo autoriza su venta para el diagnóstico in vitro. No se otorga licencia para ningún otro uso. Si necesita alguna licencia adicional para utilizar este producto y no la tiene, devuelva este material sin abrir a BD Biosciences, 155 North McCarthy Boulevard, Milpitas, California 95035, USA, y se le reintegrará el importe desembolsado por el material.

La marca comercial y el logotipo de EuroFlow y los paneles de anticuerpos EuroFlow™ son propiedad del Consorcio EuroFlow y no pueden reproducirse ni publicarse sin la previa autorización por escrito del coordinador de EuroFlow (euroflow.org).

HISTORIAL

Revisión	Fecha	Cambios realizados
23-16811-02	2020-05	Se revisó para respaldar el uso del producto en citómetros de flujo BD FACSLyric™.
23-16811-03	2021-01	Se revisó para respaldar el uso del producto con el BD FACS™ Universal Loader.
23-15586(06)	2022-06	Se actualizó para cumplir con los requisitos del Reglamento (UE) 2017/746. Se combinaron las instrucciones de uso de BD OneFlow™ LST y BD OneFlow™ B-CLPD T1 para apoyar el panel.
23-15586(07)	2023-04	Se ha actualizado la dirección legal del fabricante. Se han añadido las direcciones de los importadores de la UE y Suiza. Se ha actualizado el glosario de símbolos.

Glosario de símbolos

Consulte los símbolos correspondientes en la etiqueta del producto.

Símbolo	Significado
	Fabricante
EC REP	Representante autorizado en la Unión Europea
CH REP	Representante autorizado en Suiza
	Fecha de fabricación
	Fecha de caducidad
LOT	Código de lote
REF	Número de catálogo
SN	Número de serie
STERILE	Estéril
STERILE A	Esterilizado mediante técnicas de procesamiento asépticas
STERILE EO	Esterilizado mediante óxido de etileno
STERILE R	Esterilizado mediante irradiación
STERILE	Esterilizado mediante vapor de agua o calor seco
	No volver a esterilizar
	No estéril
	No utilizar si el envase está dañado y consultar las *instrucciones de uso*
STERILE	Vía fluida estéril
STERILE EO	Vía fluida estéril (óxido de etileno)
STERILE R	Vía fluida estéril (irradiación)
	Frágil, manipular con cuidado
	Mantener alejado de la luz solar
	Mantener seco
	Límite inferior de temperatura
	Límite superior de temperatura
	Límite de temperatura
	Limitación de humedad
	Riesgos biológicos
	No reutilizar
	Consultar las *instrucciones de uso* o las *instrucciones de uso* electrónicas
	Precaución
LATEX	Contenido o presencia de látex de caucho natural
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
CONTROL -	Control negativo
CONTROL +	Control positivo
Σ	Contenido suficiente para <*n*> pruebas
	Solo para evaluación del funcionamiento en diagnóstico in vitro
	Apirógeno
#	Número de paciente
	Este lado hacia arriba
	No apilar

Símbolo	Significado
	Sistema de barrera estéril única
PHT DEHP BBP	Contenido o presencia de ftalato: combinación de di(2-etilhexil) ftalato (DEHP) y butilbencilftalato (BBP)
	Recolectar por separado Indica la recolección por separado obligatoria de los residuos de aparatos eléctricos y electrónicos.
CE	Marca CE; significa que cumple con la especificación técnica europea
	Dispositivo para pruebas clínicas en el punto de atención a pacientes
	Dispositivo para prueba autodiagnóstica
Rx Only	Esto solo se aplica a EE. UU.: "Precaución: La ley federal estadounidense impone restricciones sobre este dispositivo, cuya venta debe ser realizada por un médico o por orden de este".
CC	País de fabricación "CC" debe sustituirse por el código de país de dos o tres letras.
	Hora de recolección
	Cortar
	Desprender aquí
	Fecha de recolección
	Mantener alejado de la luz
H_2	Producción de gas de hidrógeno
	Perforación
	Número de secuencia del panel de inicio
	Número de secuencia del panel final
	Número de secuencia interno
/	<Caja N.°> / <Total de cajas>
MD	Dispositivo médico
	Contiene sustancias peligrosas
	Marca de conformidad ucraniana
FC	Cumple con los requisitos de la FCC conforme a 21 CFR, Parte 15
c UL us	Certificación de producto UL para EE. UU. y Canadá
UDI	Identificador único de dispositivo
	Importador
	Coloque la etiqueta del paciente solo en la zona enmarcada
MR	Seguro para resonancia magnética (RM)
MR	Sujeto a condiciones para resonancia magnética (RM)
MR	No es seguro para resonancia magnética (RM)
For use with	Para usar con
This Product Contains Dry Natural Rubber	Este producto contiene caucho natural seco
For Export Only	Solo para exportación
Instruments	Instrumentos

Nota: La disposición del texto en los símbolos se determina según el diseño de la etiqueta.

L006715(08) 2023-03

INFORMACIÓN DE CONTACTO

Becton, Dickinson and Company
BD Biosciences
155 North McCarthy Boulevard
Milpitas, California 95035 USA

EC REP **Becton Dickinson Ireland Ltd.**
Donore Road, Drogheda
Co. Louth, A92 YW26
Ireland

Becton Dickinson Distribution Center NV
Laagstraat 57
9140 Temse, Belgium

CH REP **BD Switzerland Sàrl**
Route de Crassier 17
Business Park Terre-Bonne
Bâtiment A4
1262 Eysins
Switzerland

Becton Dickinson AG
Binningerstrasse 94
4123 Allschwil
Switzerland

BD Biosciences
European Customer Support
Tel +32.53.720.600
help.biosciences@bd.com

Australian and New Zealand Distributors:

Becton Dickinson Pty Ltd.
66 Waterloo Road
Macquarie Park NSW 2113
Australia

Becton Dickinson Limited
14B George Bourke Drive
Mt. Wellington Auckland 1060
New Zealand

Servicio técnico: póngase en contacto con el representante local de BD o visite bdbiosciences.com.

ClinicalApplications@bd.com

eifu.bd.com