



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

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-007920-22-0

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-007920-22-0 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones Becton Dickinson Argentina S.R.L. solicita se autorice la inscripción en el Registro Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de esta Administración Nacional, de un nuevo/s Producto/s Médico/s para diagnóstico in vitro denominado Reactivo para citometría.

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

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

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

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

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

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL

DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

DISPONE:

ARTÍCULO 1°.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico de uso in vitro Reactivo para citometría de acuerdo con lo solicitado por Becton Dickinson Argentina S.R.L. con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2°.- Autorízase los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2023-40397070-APN-INPM#ANMAT .

ARTÍCULO 3°.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 634-629 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

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

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

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

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre descriptivo: Reactivo para citometría

Marca comercial: BD Multitest™

Modelos:

644611 -BD Multitest™ 6-color TBNK

337166 – BD Multitest™ 6-color TBNK con BD Trucount™ tubes

Indicación/es de uso:

El reactivo™ BD Multitest™ 6-Color TBNK con BD Trucount™ Tubes opcionales es un reactivo de inmunofluorescencia directa de seis colores que se utiliza para identificar y determinar los porcentajes y los recuentos absolutos de linfocitos T, B y citolíticos naturales (NK), así como las subpoblaciones de linfocitos TCD4 y CD8 en sangre periférica con un citómetro de flujo de BD equipado de esta forma:

- Un láser azul de al menos 488 nm y un láser rojo de 640 nm
- Capacidad para detectar dispersión frontal (FSC) y dispersión lateral (SSC)

- Fluorescencia de al menos 6 colores
- Software para obtener y analizar los datos

Forma de presentación: 337166 – BD Multitest™ 6-color TBNK con BD Trucount™ tubes - 50 pruebas
644611 - BD Multitest™ 6-color TBNK - 50 pruebas

Período de vida útil y condición de conservación: 14 meses - temperatura de conservación 2–8 °C.

Nombre del fabricante:
Becton Dickinson Caribe

Lugar de elaboración:
Becton Dickinson Caribe, LTD, Vicks Drive, Lot 1 Corner
Road 735, Cayey, 00736, Puerto Rico, USA para Becton, Dickinson and Company, BD
Biosciences, 2350 Qume Drive, San Jose, CA 95131, USA

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Expediente N° 1-0047-3110-007920-22-0

N° Identificadorio Trámite: 44389


AM

Digitally signed by GARAY Valéria Teresa
Date: 2023.06.01 13:03:32 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2023.06.01 13:03:37 -03:00



Rótulos

Internos


 **BD Multitest™ 6-Color TBNK** REF 644611


- CD3 FITC
- CD16 PE + CD56 PE
- CD45 PerCP-Cy5.5
- CD4 PE-Cy7
- CD19 APC
- CD8 APC-Cy7


 eifu.bd.com

 **2797** 

 2°C - 8°C

 50


 **Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences**
2350 Qume Drive, San Jose, CA 95131 USA



 **Becton Dickinson Ireland Ltd.**, Donore Road, Drogheda, Co. Louth, Ireland

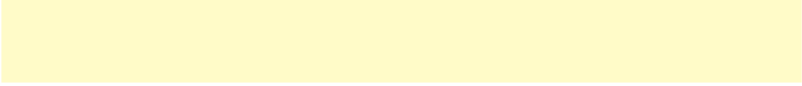
 **BD Switzerland Sàrl**, 1262 Eysins, Switzerland


BD, the BD Logo and Multitest are trademarks of Becton, Dickinson and Company or its affiliates. © 2021 BD. All rights reserved.
Cy™ is a trademark of GE Healthcare.

Made in USA
23-10502-05

 **BD Trucount™ Tube**

 **LOT** 



 **Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences**
2350 Qume Drive, San Jose, CA 95131 USA

23-6092-06

BD Trucount™ Tubes

Date Opened:

Дата на отварање, Datum otvaranja, Datum otevření, Dato for åbning, Avamiskukipäev, Date d'ouverture, Geöffnet am, Ημερομηνία ανοίγματος, Megnyitás dátuma, Data di apertura, Ашылган күні, Atvēršanas datums, Atidarymo data, Dato åpnet, Data otwarcia, Data de abertura, Data deschiderii, Дата вскрытия, Датум отварања, Dátum otvorenia, Fecha de apertura, Öppnad den, Açıldığı tarih, Дата відкриття

25 BD Trucount™ Tubes



Bead Count:

Брой микросфери, Број mikročestica, Počet kuliček, Beadantal, Graanulite arv, Nombre de billes, Bead-Anzahl, Αριθμός σφαιριδίων, Gyöngyszám, Numero di microsfere, Грануларлар саны, Mikrosfèru skaits, Granulių skaičius, Antal kuler, Liczba kulek, Contagem de esferas, Număr de picături, Количество гранул, Број гранула, Počet guľôček, Recuento de microesferas, Partikelantal, Boncuk Sayısı, Кількість часток



BD, the BD Logo and Trucount are trademarks of Becton, Dickinson and Company or its affiliates.
© 2021 BD. All rights reserved.

Made in USA
91-0786/23-3823-12

Externos

 **BD Multitest™ 6-Color TBNK**
with BD Trucount™ Tubes

REF 337166

- CD3 FITC
- CD16 PE + CD56 PE
- CD45 PerCP-Cy5.5
- CD4 PE-Cy7
- CD19 APC
- CD8 APC-Cy7



 **BD Multitest™ 6-Color TBNK**

REF 644611

- CD3 FITC
- CD16 PE + CD56 PE
- CD45 PerCP-Cy5.5
- CD4 PE-Cy7
- CD19 APC
- CD8 APC-Cy7





Becton, Dickinson and Company
BD Biosciences
2350 Qume Drive
San Jose, California 95131 USA



Becton Dickinson Ireland Ltd.
Donore Road, Dragheda
Co. Louth, A92 YW26
Ireland



BD Switzerland Sàrl
Terre Banne Park – A4
Route de Crassier 17
1262 Eysins, 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

bdbiosciences.com
ClinicalApplications@bd.com

23-21672-03

SOBRERÓTULO

Becton Dickinson Argentina SRL

Depósito: Av Otto Krausse N° 4.205/ Av. Ingeniero Eiffel N° 4.180, sector J/4250, El Triángulo,
Partido de Malvinas Argentinas, Prov. Buenos Aires, Argentina.

Teléfono: 0800-444-5523

E-mail: crc_argentina@bd.com

Directora Técnica: Paula Rao, Farmacéutica MN N° 17.813

USO PROFESIONAL EXCLUSIVO

VENTA EXCLUSIVA A LABORATORIOS DE ANÁLISIS CLÍNICOS

Autorizado por la ANMAT N° PM 634-629

BD Multitest™ 6-Color TBNK

50 análisis, n.º de catálogo 644611

**50 análisis con BD Trucount™ Tubes,
n.º de catálogo 337166**

23-10834(13)

2022-06

Español



1. USO PREVISTO

El reactivo™ BD Multitest™ 6-Color TBNK con BD Trucount™ Tubes opcionales es un reactivo de inmunofluorescencia directa de seis colores que se utiliza para identificar y determinar los porcentajes y los recuentos absolutos de linfocitos T, B y citolíticos naturales (NK), así como las subpoblaciones de linfocitos T CD4 y CD8 en sangre periférica con un citómetro de flujo de BD equipado de esta forma:

- Un láser azul de al menos 488 nm y un láser rojo de 640 nm
- Capacidad para detectar dispersión frontal (FSC) y dispersión lateral (SSC)
- Fluorescencia de al menos 6 colores
- Software para obtener y analizar los datos

Aplicaciones clínicas

La determinación de los porcentajes o recuentos absolutos de linfocitos T CD3⁺CD4⁺ se utiliza para el control de individuos infectados con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH). Los individuos con VIH muestran normalmente una disminución constante en los recuentos absolutos de linfocitos T CD3⁺CD4⁺ a medida que avanza la infección.¹

La determinación de los porcentajes o los recuentos absolutos de linfocitos T CD3⁺, CD3⁺CD4⁺ o CD3⁺CD8⁺ o linfocitos B CD19⁺ se utiliza para caracterizar o controlar algunas formas de inmunodeficiencia y enfermedades autoinmunitarias.^{1,2}

La determinación de los porcentajes o los recuentos absolutos de linfocitos NK CD3⁻ y CD16⁺ o CD56⁺ se utiliza en la evaluación inmunológica de sujetos normales desde el punto de vista hematológico o de pacientes que presentan, o se sospecha que presentan, inmunodeficiencia u otras enfermedades inmunomediadas.^{1,3}

2. RESUMEN DEL ANÁLISIS

La sangre periférica humana contiene tres tipos de linfocitos: T, B y NK. Sus funciones biológicas son distintas y pueden identificarse por las diferencias en la expresión del antígeno de superficie celular.

Las diversas subpoblaciones de linfocitos T y linfocitos B específicos de antígenos desempeñan distintas funciones en la respuesta inmunitaria adaptativa. Los linfocitos T colaboradores/inductores secretan citocinas que contribuyen a regular la actividad de otros linfocitos T y de los linfocitos B. Los linfocitos T supresores/citotóxicos inhiben la actividad de otros linfocitos T o reconocen y lisan células infectadas o anómalas. Los linfocitos B específicos de antígenos producen y secretan inmunoglobulinas para regular la

respuesta inmunitaria humoral. Los linfocitos NK actúan como mediadores de citotoxicidad no específica de antígenos contra determinadas células infectadas o anómalas.⁴

El BD Multitest™ 6-Color TBNK con o sin BD Trucount™ Tubes es un ensayo cuantitativo indicado para el uso por parte de profesionales de laboratorio para identificar y cuantificar las subpoblaciones de linfocitos T, B y NK siguientes:

- Linfocitos T CD3⁺
- Linfocitos T colaboradores/inductores CD3⁺CD4⁺
- Linfocitos T supresores/citotóxicos CD3⁺CD8⁺
- Linfocitos B CD19⁺
- Linfocitos citolíticos naturales CD3⁻CD16⁺CD56⁺

Se pueden preparar y adquirir muestras de forma automática con el sistema de preparación de muestras BD FACSDuet™ y cargadores BD, respectivamente. Se pueden llevar a cabo análisis de datos mediante una plantilla predefinida y definición automática de áreas de selección, que el usuario puede ajustar a mano si es necesario.

Principio de funcionamiento

El reactivo BD Multitest™ 6-Color TBNK está compuesto por siete anticuerpos monoclonales, cada uno de ellos conjugado con un fluorocromo específico. El reactivo se añade a sangre periférica y se incuban, lo que permite que cada anticuerpo monoclonal del reactivo se una a un antígeno específico en la superficie de las células. Después de la incubación, se añade BD FACS™ Lysing Solution para lisar los eritrocitos de la muestra. Las células se adquieren en un citómetro de flujo de BD utilizando el software apropiado. Durante la adquisición, las células pasan a través del haz del láser y dispersan la luz del láser. Las células teñidas emiten fluorescencia. Estas señales de dispersión y fluorescencia, detectadas por el instrumento, proporcionan información acerca del tamaño de la célula, su complejidad interna y la intensidad relativa de la fluorescencia. Los reactivos BD Multitest™ utilizan activación de fluorescencia, lo que permite la selección de regiones por fluorescencia directa de la población de linfocitos con el fin de reducir la contaminación de eritrocitos no lisados o nucleados en el área de selección. El software y el módulo de ensayo BD Multitest™ 6-Color TBNK se utilizan para analizar los datos y notificar el resultado.

Para determinar los recuentos celulares absolutos, expresados como el número de células/μl, se añade un volumen preciso de muestra y el reactivo BD Multitest™ 6-Color TBNK a un BD Trucount™ Tube. El BD Trucount™ Tube contiene un sedimento liofilizado de microesferas fluorescentes. Durante la incubación del reactivo y la muestra, el sedimento de microesferas se disuelve, liberando un número conocido de microesferas fluorescentes, que se distinguen de las células por la intensidad de su fluorescencia. Después del lisado de eritrocitos, la muestra se adquiere en un citómetro de flujo de BD. El software determina los recuentos celulares absolutos mediante la comparación de eventos celulares y eventos de microesferas y, a continuación, notifica los recuentos celulares absolutos en el informe de laboratorio.

Para conocer los principios de funcionamiento del citómetro de flujo, consulte las Instrucciones de uso del instrumento.

3. REACTIVO

Composición del reactivo

El reactivo consta de los anticuerpos conjugados enumerados a continuación:

Tabla 1 Composición del reactivo

Anticuerpo	Fluorocromo	Clon	Isotipo	Concentración (µg/ml)
CD3	FITC	SK7 ^{5,6}	IgG ₁	2,3
CD16	PE	B73.1 ⁷	IgG ₁	1,65
CD56	PE	NCAM16.2 ⁸	IgG _{2b}	1,1
CD45	PerCP-Cy5.5	2D1 ⁹	IgG ₁	6,0
CD4	PE-Cy7	SK3 ^{10,11,12}	IgG ₁	1,5
CD19	APC	SJ25C1 ¹³	IgG ₁	2,3
CD8	APC-Cy7	SK1 ^{10,11}	IgG ₁	6,3

CD3 (SK7) reconoce la cadena épsilon del complejo antígeno CD3/receptor del antígeno de linfocitos T (TCR).¹⁴ El antígeno CD3 está presente en los linfocitos T y se asocia de forma no covalente con TCR α/β o γ/δ .¹⁵ CD3 reacciona mínimamente con otras poblaciones celulares.¹⁶

CD16 junto con CD56 facilitan la identificación de la población de linfocitos NK.

CD16 (B73.1) reconoce un antígeno de linfocito NK humano que es un receptor del Fc de la IgG.^{17,18,19} CD16 también reacciona con neutrófilos²⁰ y con granulocitos en una medida variable.¹⁷

CD56 (NCAM16.2) reconoce un dominio extracelular similar a la inmunoglobulina de la molécula de adhesión celular neural (NCAM).^{21,22,23} El CD56 también reacciona con aproximadamente el 5 % de los linfocitos de sangre periférica CD3⁺.²²

CD45 (2D1) reconoce todas las isoformas de la familia de los antígenos leucocitarios comunes (ALC)/T200.²⁴ El antígeno CD45 está presente en todos los leucocitos humanos, incluidos linfocitos, monocitos, granulocitos, eosinófilos y basófilos en sangre periférica.²⁴ Se ha observado que CD45 reacciona débilmente con eritrocitos y trombocitos circulantes maduros.^{24,25}

CD4 (SK3) reconoce un antígeno que interactúa con las moléculas del CHP de clase II y es el principal receptor del VIH.^{26,27} El antígeno CD4 está presente en los linfocitos T colaboradores/inductores; también está presente en baja densidad en la superficie celular y en el citoplasma de los monocitos.¹⁰

CD19 (SJ25C1) reconoce un antígeno que está presente en los linfocitos B humanos en todas las fases de maduración,^{11,28,29} pero se pierde en las células plasmáticas.²⁹ CD19 no reacciona con linfocitos T, granulocitos ni monocitos en reposo o activados.³⁰

La molécula CD8 (SK1) reconoce un antígeno que interactúa con las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) de clase I, lo que da como resultado una mayor adhesión entre los linfocitos T CD8⁺ y las células diana y una mayor activación de los linfocitos T en reposo.^{31,32,33} El antígeno CD8 está presente en los linfocitos T supresores/citotóxicos. CD8 también reconoce una subpoblación de linfocitos NK.³⁴

Precauciones

- El reactivo debe ser transparente. No utilice el reactivo si observa cambios en su aspecto. La precipitación, la turbiedad o el cambio de color indican inestabilidad o deterioro.
- El reactivo de anticuerpo contiene azida sódica como conservante; sin embargo, es preciso extremar las precauciones para evitar la contaminación microbiana que podría causar resultados erróneos.
- Si utiliza BD Trucount™ Tubes, calibre las pipetas para que dispensen exactamente 50 µl de muestra o realice la técnica de pipeteado inverso (consulte «Pipeteado inverso» en la página 8). Consulte las instrucciones del fabricante de la pipeta para obtener más información.

- El recuento de microesferas varía dependiendo del lote de BD Trucount™ Tubes. Es fundamental usar el recuento de microesferas que se indica en el lote actual de BD Trucount™ Tubes al introducir este valor en el software o al calcular manualmente los recuentos absolutos. No mezcle varios lotes de BD Trucount™ Tubes el mismo procesamiento.
- Los BD Trucount™ Tubes están diseñados para utilizarse con un procedimiento de lisado/no lavado específico. No establezca el umbral en dispersión frontal (FSC) para la recogida de datos.
- Visite regdocs.bd.com/regdocs/sdsSearch para descargar la ficha de datos de seguridad.

Conservación y manipulación

- Almacene el reactivo a una temperatura de 2–8 °C. El reactivo contenido en viales abiertos o sin abrir es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. No se debe utilizar después de esta fecha de caducidad.
- No congele el reactivo ni lo exponga a la luz directa durante su almacenamiento o la incubación con células. Mantenga seco el vial de reactivo.
- El reactivo es estable cuando se almacena en el instrumento BD FACSDuet™ 8 horas al día durante 5 días. No almacene el reactivo en el instrumento hasta el día siguiente. El usuario deberá validar el uso de cualquier reactivo restante que haya estado almacenado en el instrumento BD FACSDuet™ durante 5 días.
- Almacene los BD Trucount™ Tubes en su bolsa de papel de aluminio original a una temperatura de 2–25 °C. Para evitar una posible condensación, no abra la bolsa de papel de aluminio hasta que haya alcanzado la temperatura ambiente y vuelva a cerrarla con cuidado inmediatamente después de extraer un tubo. No extraiga el paquete de desecante de la bolsa. Use los tubos en el plazo de 1 hora después de extraerlos de la bolsa de papel de aluminio.
- Los BD Trucount™ Tubes en una bolsa que no se ha abierto son estables hasta la fecha de caducidad que se indica en el envase. No utilice los tubos después de la fecha de caducidad.
- Los tubos en una bolsa abierta son estables durante 1 mes desde la fecha de apertura de la bolsa, siempre que esta se almacene según las indicaciones. Escriba la fecha de la apertura inicial de la bolsa en el espacio reservado para tal fin en la etiqueta.

4. INSTRUMENTO

En la tabla siguiente se describe los sistemas BD FACSLytic™ y BD FACSCanto™ II. Consulte la documentación del usuario del reactivo o el instrumento correspondiente para obtener más detalles.

Tabla 2 Sistemas BD FACSLytic™ y BD FACSCanto™ II

Citómetro de flujo	Microesferas de calibración	Software de calibración	Software de análisis	Módulo de ensayo
BD FACSLytic™	BD [®] CS&T Beads ^a BD [®] FC Beads 7-Color Kit ^b	Aplicación BD FACSuite™ Clinical	Aplicación BD FACSuite™ Clinical	BD Multitest™ 6-Color
BD FACSCanto™ II	BD FACS™ 7-Color Setup Beads ^c	BD FACSCanto™ Clinical Software v2.4 o posterior	BD FACSCanto™ Clinical Software v2.4 o posterior	BD Multitest™ 6-Color

a. Para realizar el control de calidad diario del citómetro.

b. Para calcular la compensación.

c. Para definir los voltajes de los tubos fotomultiplicadores (PMT) y la compensación de fluorescencia, además de para comprobar la sensibilidad del instrumento, antes de utilizarlo.

El BD FACS™ Loader y el BD FACS™ Universal Loader también se pueden utilizar con este producto. Consulte las instrucciones de uso del citómetro con el Loader para obtener más información.

El sistema de preparación de muestras BD FACSDuet™ también se puede utilizar con este producto. Consulte las *Instrucciones de uso del sistema de preparación de muestras BD FACSDuet™* para obtener más información.

5. RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

- Extraiga muestras de sangre de forma aséptica por venopunción en un BD Vacutainer® EDTA blood collection tube o equivalente.³⁵

El BD Multitest™ 6-Color TBNK con BD Trucount™ Tubes se ha validado con formulaciones de EDTA tanto líquidas como secas. El reactivo no ha sido validado por BD Biosciences para utilizarlo con anticoagulantes líquidos con heparina o ácido citrato dextrosa (ACD) en la determinación de recuentos absolutos con BD Trucount™ Tubes.

El ensayo requiere 50 µl de sangre periférica por análisis. Recomendamos comenzar con un volumen mínimo de 100 µl de sangre para contemplar el volumen adicional necesario para realizar la técnica de pipeteado inverso.

- Si está utilizando el método de plataforma doble, obtenga el recuento de leucocitos y la fórmula leucocitaria de la misma muestra de sangre completa antes de la tinción para calcular los recuentos absolutos a partir de los porcentajes. Consulte «Método de plataforma doble» en la página 17.
- Almacene las muestras de sangre a temperatura ambiente (20–25 °C).
- Tiña las muestras en las 24 horas posteriores a la extracción.
- Adquiera las muestras en las 6 horas posteriores a la tinción.

ADVERTENCIA Se consideran de riesgo biológico todas las muestras biológicas y todos los materiales que hayan entrado en contacto con ellas. Manipular como si pudieran transmitir alguna infección^{36,37} y desechar tomando las precauciones adecuadas según la normativa federal, estatal y local. Nunca pipetee con la boca. Utilice ropa protectora, protección ocular y guantes adecuados. Se ha notificado que la fijación inactiva el VIH.³⁸

Interferencia

Algunas sustancias presentes en la muestra pueden interferir con el ensayo:

- Las muestras obtenidas de pacientes tratados con medicamentos inmunosupresores^{39,40,41} o sometidos a tratamiento con anticuerpos monoclonales^{42,43,44,45,46,47} pueden ofrecer resultados erróneos.
- Las muestras hemolizadas pueden interferir con el ensayo y por este motivo deben rechazarse.⁴⁸ No use muestras de pacientes previamente fijadas y almacenadas. Las muestras de sangre completa refrigeradas antes de su tinción pueden dar resultados anómalos.
- Los blastocitos pueden afectar a los resultados del análisis.⁴⁹
- Las muestras lipémicas pueden interferir con el ensayo.^{50,51}
- La bilirrubina interfiere en un pico de absorbencia de 456 nm.⁵²

Condiciones que causan interferencias

En la tabla siguiente se indican las sustancias que se han probado para saber si interfieren con el reactivo BD Multitest™ 6-Color TBNK con BD Trucount™ Tubes opcionales.

Las pruebas de interferencia se realizaron de acuerdo con las pautas del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).⁵³ No se detectaron interferencias en las siguientes concentraciones.

Tabla 3 Sustancias no interferentes

Analito	Concentración probada
Acetaminofeno	156 µg/ml
Ácido acetilsalicílico (aspirina)	30 µg/ml
Albuterol	0,015 µg/ml
Atenolol	3 µg/ml

Analito	Concentración probada
Atorvastatina	0,25 µg/ml
Azitromicina	3,7 µg/ml
Bilirrubina conjugada	2 mg/dl
Cobicistat	3,6 µg/ml
Efavirenz	12 µg/ml
Enoxaparina	2 µg/ml
Guaifenesina	1,5 µg/ml
Hidroxicloroquina	0,2 µg/ml
Ibuprofeno	73 µg/ml
Insulina	37 µU/ml
Kaletra	15,5 µg/ml
Lisinopril	0,082 µg/ml
Maraviroc	0,888 µg/ml
Oseltamivir	0,133 µg/ml
Raltegravir	15 µg/ml
Remdesivir	16,32 µg/ml
Ritonavir	15 µg/ml
Tenofovir	0,978 µg/ml
Tocilizumab	149,4 µg/ml
Vancomicina	40 µg/ml

Las siguientes sustancias interfirieron con el ensayo en las concentraciones indicadas:

Tabla 4 Sustancias interferentes

Analito	Concentración probada
Albúmina ^{a,e}	6 g/dl
Bilirrubina no conjugada ^{b,e}	2 mg/dl
Eritrocitos ^{c,e}	6 x 10 ³ células/μl
Hemoglobina ^{c,e}	1000 mg/dl
Triglicéridos ^{d,e}	1500 mg/dl

a. La albúmina interfiere como resultado de su concentración comparativamente elevada en la sangre periférica y su capacidad tanto de unión como de liberación de grandes cantidades de ligandos.⁵⁴

b. La bilirrubina no conjugada puede inducir la autofluorescencia.⁵⁵

c. La presencia de eritrocitos en la preparación de muestras puede provocar una leve interferencia e interacciones inespecíficas lo que conduce a resultados de la prueba erróneos.⁵⁶ Las muestras hemolizadas deben rechazarse. La concentración de hemoglobina hace referencia a la hemoglobina libre.

d. Los fármacos inmunomoduladores utilizados para el tratamiento de la infección por VIH pueden causar lipemia. Se sabe que la lipemia interfiere en los ensayos que utilizan la transmisión de la luz y afecta a la dispersión de esta.^{57,58}

e. Las sustancias endógenas enumeradas interfieren con el ensayo en concentraciones más elevadas de lo normal, es decir, hiperalbuminemia, hiperbilirrubinemia no conjugada, eritrocitosis, hemoglobinemia e hipertrigliceridemia. La interferencia causada por estas sustancias endógenas no es poco frecuente y aparece descrita en la literatura médica (consulte las referencias en las notas a–d).

6. PROCEDIMIENTO

Reactivos y materiales

Reactivos y materiales suministrados

El BD Multitest™ 6-Color TBNK se suministra en 1 ml de solución salina tamponada con <0,1 % de azida sódica. El reactivo es suficiente para 50 análisis.

Si va a calcular recuentos absolutos, utilice BD Multitest™ 6-Color TBNK con BD Trucount™ Tubes. El reactivo incluye dos bolsas de BD Trucount™ Tubes. Cada bolsa contiene 25 tubos, suficientes para 25 análisis. Los tubos contienen un sedimento liofilizado de microesferas fluorescentes en un tubo de un solo uso.

Reactivos y materiales necesarios que no se suministran

- BD FACS™ Lysing Solution (n.º de catálogo 349202).
La solución de lisado se suministra en forma de concentrado 10X y contiene dietilenglicol y formaldehído. Consulte las instrucciones de uso de *BD FACS™ Lysing Solution* para conocer las precauciones y advertencias.
- Tubos de ensayo de poliestireno de 12 x 75 mm desechables con tapón o equivalentes (si no se utilizan BD Trucount™ Tubes).
- Agitador vorticial
- Micropipeta con puntas
- Dispensador a granel o pipeta (450 μl) para dispensar BD FACS™ Lysing Solution 1X.
- BD Multi-Check™ Control (números de catálogo 340911, 340912 y 340913)
- BD Multi-Check™ CD4 Low Control (números de catálogo 340914, 340915 y 340916)
- (Opcional) BD Trucount™ Controls (n.º de catálogo 340335).
- (Opcional) BD FACS™ Universal Loader
- BD FACS™ Loader opcional (usado en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II)

Dilución de BD FACS™ Lysing Solution

Diluya el concentrado 10X 1:10 con agua desionizada a temperatura ambiente (20–25 °C). La solución preparada se mantendrá estable durante un mes siempre que se almacene en un recipiente de vidrio o de polietileno de alta densidad (HDPE) a temperatura ambiente.

Pipeteado inverso

Cuando se usa un BD Trucount™ Tube, es fundamental realizar un pipeteado exacto. Utilice la técnica de pipeteado inverso para añadir la muestra a un BD Trucount™ Tube. Para el pipeteado inverso, presione el botón hasta el segundo tope. Suelte el botón para aspirar muestra en exceso hacia la punta. Presione el botón hasta el primer tope para expulsar un volumen preciso de muestra, de modo que la muestra sobrante se quede en la punta.

Realización del control de calidad

Analice dos niveles de material de control de proceso (por ejemplo, BD Multi-Check™ Control y BD Multi-Check™ CD4 Low Control) antes de adquirir muestras de paciente.⁵⁹ Los materiales de control deben especificar los valores establecidos de porcentaje positivo y recuentos absolutos de las poblaciones celulares correspondientes. Analice los controles del mismo modo que las muestras de paciente para controlar el rendimiento de todo el proceso analítico. Esto debe hacerse al menos una vez cada día que se realicen análisis de pacientes.

NOTA BD Multi-Check™ Control y BD Multi-Check™ CD4 Low Control están validados como controles de proceso en citómetros de flujo BD FACSLytic™.

En caso necesario, utilice BD Trucount™ Controls para verificar la exactitud del pipeteado y el valor de recuento de microesferas de los BD Trucount™ Tubes.

Tinción de las células

Si utiliza el sistema BD FACSDuet™ para preparar las muestras, consulte las *Instrucciones de uso del sistema de preparación de muestras de BD FACSDuet™*.

1. Para cada muestra, extraiga un tubo y etiquételo con la identificación de la muestra adecuada.
Para calcular los recuentos absolutos y los porcentajes de las subpoblaciones de linfocitos, etiquete un BD Trucount™ Tube. Para calcular únicamente los porcentajes de las subpoblaciones de linfocitos, etiquete un tubo de 12 × 75 mm.
NOTA En el caso de las muestras teñidas en BD Trucount™ Tubes, compruebe que el sedimento de microesferas BD Trucount™ esté situado bajo el fiador metálico en el fondo del tubo. En caso contrario, descarte el BD Trucount™ Tube y reemplácelo por otro. No transfiera las microesferas a otro tubo.
2. Pipetee 20 µl de reactivo BD Multitest™ 6-Color TBNK en el fondo del tubo.
Si utiliza un BD Trucount™ Tube, pipetee el reactivo en la pared del tubo, justo por encima del fiador metálico, sin tocar el sedimento de microesferas.
3. Pipetee 50 µl de material de control o sangre periférica con anticoagulante bien mezclados en el lateral del tubo.
Si utiliza un BD Trucount™ Tube, pipetee la muestra en la pared del tubo, justo por encima del fiador metálico, sin tocar el sedimento de microesferas.
NOTA Mezcle a conciencia los controles antes de pipetearlos. Consulte las instrucciones de uso de *BD Multi-Check™ Control* o *BD Multi-Check™ CD4 Low Control* para obtener instrucciones detalladas.
NOTA Use la técnica de pipeteado inverso para pipetear la muestra en el lateral del tubo justo por encima del fiador. Consulte «Pipeteado inverso» en la página 8. Evite que quede muestra en el lateral del tubo.

Si queda sangre completa o material de control en el lateral del tubo, no se teñirá con el reactivo y esto podría afectar a los resultados.

4. Tape el tubo y agite suavemente para mezclar.
5. Incube durante 15–30 minutos en un lugar oscuro a temperatura ambiente (20–25 °C).
6. Añada 450 µl de BD FACS™ Lysing Solution 1X al tubo.
7. Tape el tubo y agite suavemente en el agitador vorticial para mezclar.
8. Incube durante 15–30 minutos en un lugar oscuro a temperatura ambiente (20–25 °C).

La muestra ahora está lista para analizarse en el citómetro de flujo. Adquiera la muestra en las 6 horas posteriores a la tinción; almacene la muestra teñida a temperatura ambiente (20–25 °C) en la oscuridad hasta el momento de la adquisición.

Ejecución del ensayo con citómetros de flujo BD FACSLyric™

Antes de empezar:

1. Asegúrese de que el control de calidad de la caracterización y la configuración de referencia de lisado/no lavado no hayan caducado.
2. Añada los lotes de reactivo a la biblioteca si es necesario.

Consulte las *Instrucciones de uso del sistema BD FACSLyric™* para obtener información.

3. Lleve a cabo el control de calidad diario del rendimiento (PQC) con BD® CS&T Beads.

Consulte las Instrucciones de uso de *BD® CS&T Beads* y las *Instrucciones de uso del sistema BD FACSLyric™* para obtener información.

Para realizar el ensayo:

1. Cree una lista de trabajo.
 - Cree una tarea Multi-Check™ Control para cada control de proceso que esté llevando a cabo.
 - Cree una tarea de ensayo adecuada para cada muestra de paciente que vaya a procesar.
2. Introduzca la información correspondiente en la tabla de la lista de trabajo.
 - Si no utiliza BD Trucount™ Tubes, introduzca el recuento de leucocitos y el porcentaje de linfocitos (Leucocitos [$\times 1000$] y Linfocitos [%], respectivamente) o el recuento de linfocitos (Linfocitos [$\times 1000$]) en la columna correspondiente.

NOTA Divida el recuento de leucocitos o linfocitos entre 1000 antes de introducir el valor en el software.

- Si utiliza BD Trucount™ Tubes, introduzca el ID de lote de los tubos y el recuento de microesferas, que figura en la etiqueta de la bolsa, en la columna correspondiente (Trucount Lot ID [ID lote Trucount] o Beads Per Pellet [Microesferas por sedimento], respectivamente).
3. Ejecute las tareas de control de la lista de trabajo.
 4. Agite a conciencia cada uno de los tubos en el agitador vorticial, a baja velocidad, inmediatamente antes de realizar la adquisición.⁶⁰

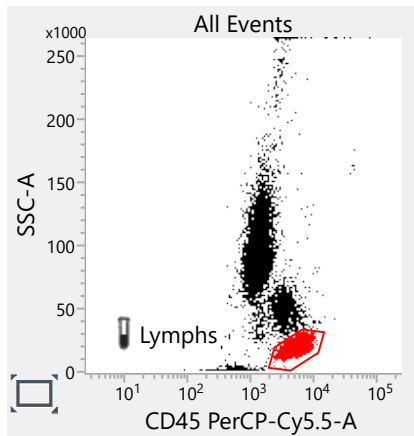
NOTA Si utiliza el BD FACS™ Universal Loader, agite los tubos en el agitador vorticial justo antes de ponerlos en las gradillas del Loader.

5. Después de adquirir las muestras de control, haga clic en **Stop Tube** (Detener tubo).

NOTA Aquí se presupone que el control de proceso se supera correctamente. Deténgalo para verificarlo y, a continuación, continúe con las muestras de interés. Si el control de proceso no se supera correctamente, es necesario teñir las muestras y procesar los controles de nuevo, pues no hay forma de determinar si el error se debe a la tinción o al instrumento.

6. Revise el informe de laboratorio de los controles.
7. Inspeccione visualmente el gráfico de puntos de CD45 PerCP-Cy5.5-A frente a SSC-A.

La población de linfocitos debe mostrarse como un grupo compacto y brillante con SSC baja. Los monocitos y granulocitos deben aparecer también como grupos diferenciados. No continúe con el análisis si las poblaciones son difusas y la diferenciación entre los grupos es escasa o inexistente.



8. Compruebe que los resultados se encuentran dentro de los valores que se muestran en la hoja de valores de análisis, incluida con los controles.
9. Sitúe el puntero de ejecución en la primera muestra del paciente y seleccione **Run from Pointer** (Ejecutar desde puntero) del menú **Run** (Ejecutar).

Antes de la adquisición de muestras, ajuste el umbral para reducir al mínimo los restos celulares y compruebe que las poblaciones de interés están incluidas.

10. Revise el informe de laboratorio del ensayo.

En la página 1 del informe de laboratorio se incluyen gráficos de puntos para identificar las poblaciones celulares. El informe de laboratorio mostrado a continuación corresponde al BD Multitest™ 6-Color TBNK sin BD Trucount™ Tubes.

BD 6 Color TBNK: Lab Report

Sample ID: 001

Sample Name:

Case Number:

Acquired Using: Worklist_001

Cytometer: BD FACSLyric

Sample Preparer:

Operator: Admin User

Approved: 12/4/2020 3:20:46 PM

Cytometer SN:

Sample Preparer SN:

Director:

Department: None

Entry Status: Approved

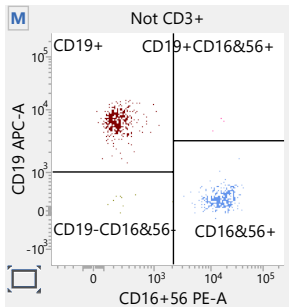
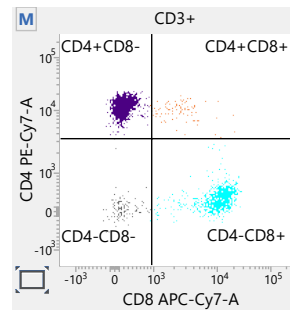
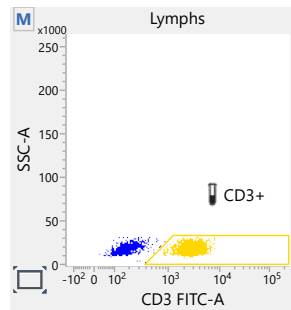
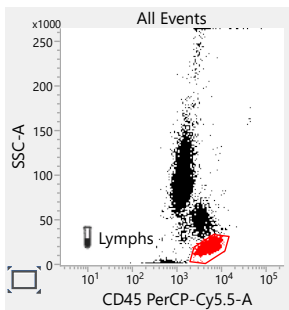
Software: BD FACSuite Clinical

Institution: None

Address:

Tube Name: CD3/16+56/45/4/19/8

Events Acquired	10,000	Acquisition Date	12/4/2020
Reagent Lot ID	Multitest 6-color TBNK Lot ID: 83947	Acquisition Time	2:52:56 PM
Keyword 1	22	Keyword 2	33
WBC (x1000)	7.0	Lymphs (%)	30.0
Lymphs (x1000)	<no value>		



En la página 2 del informe de laboratorio se resumen los resultados y se presentan los resultados de CC del ensayo y cualquier mensaje de CC que se haya generado.

Sample ID: CDCheX 03280071

Sample Name:

Case Number:

Acquired Using: Worklist_004

Assay: 6 Color TBNK

Results Summary (Abs Cnt is in cells/ μ L)

Label	%Lymphs	Value or Abs Cnt
Lymphs Events		3,211
Lymphs		2,100
CD3+	77.39	1,625
CD3+CD4+	50.83	1,067
CD3+CD4+ (excl. dual pos.)	48.18	1,012
CD3+CD8+	25.97	545
CD3+CD8+ (excl. dual pos.)	23.33	490
CD3+CD4+CD8+	2.65	56
CD3+CD4-CD8-	3.24	68
CD19+	12.36	260
CD3-CD16+CD56+	9.87	207

QC Results

Label	Results
4/8 Ratio	1.96
%T-Sum (<10%)	3.24
Lymphosum (95-105%)	99.63

QC Messages

Showing 0 of 0 QC Messages

Consulte las *Instrucciones de uso del sistema BD FACSLyric™* o *BD FACSLyric™ Clinical Reference System* (Sistema de referencia clínica de BD FACSLyric™) para obtener más información.

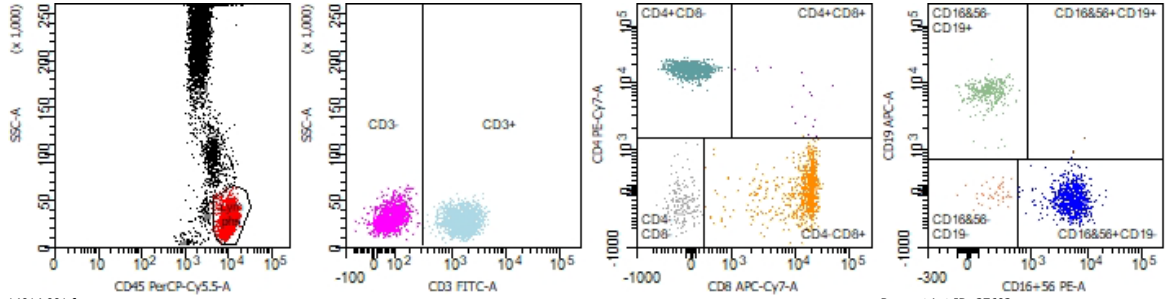
Ejecución del panel con citómetros de flujo BD FACSCanto™ II

1. Ejecute la configuración utilizando BD FACS™ 7-Color Setup Beads.
Consulte las *Instrucciones de uso de BD FACSCanto™ II* para más información.
2. Añada una entrada del panel BD Multitest™ 6-Color TBNK para cada control de proceso y muestra de paciente.
NOTA Deberá aparecer la palabra «Control» en el nombre de los controles de procesos.
3. Adquiera las muestras de control del proceso.
4. Agite a conciencia cada uno de los tubos en el agitador vorticial, a baja velocidad, inmediatamente antes de realizar la adquisición. Es importante que reduzca la agregación antes de procesar las muestras en el citómetro de flujo.
NOTA Si utiliza el BD FACS™ Loader, agite los tubos en el agitador vorticial justo antes de ponerlos en las gradillas del Loader.
5. Compruebe que los valores de control de proceso se encuentren dentro de los intervalos previstos por el fabricante.
6. Adquiera las muestras de pacientes.

7. Revise el informe de laboratorio del ensayo.

14			
Director:		Panel:	6 Color TBNK
		Acquired:	10/17/2017 3:05:34 PM
		Analyzed:	1/4/2018 1:45:18 PM
		Status:	OK
		Operator:	Lab Manager
		Reviewer:	
		Results:	04012018.csv
WBC Count (x1000):	Lymphs (%):	Lymphs (x1000):	
BD FACSCanto 1		BD FACSCanto v.3.5.6520.4317	

CD3/CD16+56/CD45/CD4/CD19/CD8



14014.001.fcs

Parameter	Percent	Value/AbsCnt
Lymph Events		3216
CD3+	62.62	0
CD3+CD8+ (Excl. dual pos.)	24.63	0
CD3+CD4+ (Excl. dual pos.)	32.21	0
CD3+CD4-CD8-	5.29	0
CD3+CD4+CD8+	0.50	0
CD3+CD8+	25.12	0
CD3+CD4+	32.71	0
CD45+		0
4/8 Ratio (Excl. dual pos.)		1.31
4/8 Ratio		1.30
CD16+CD56+	26.21	0
CD19+	9.73	0

QC Messages

% T-Sum is: 4.79

Lymphosum is: 98.57

4/8 ratio is: 1.30

% T-Sum (Excl. dual pos.) is: 5.29

4/8 ratio (Excl. dual pos.) is: 1.31

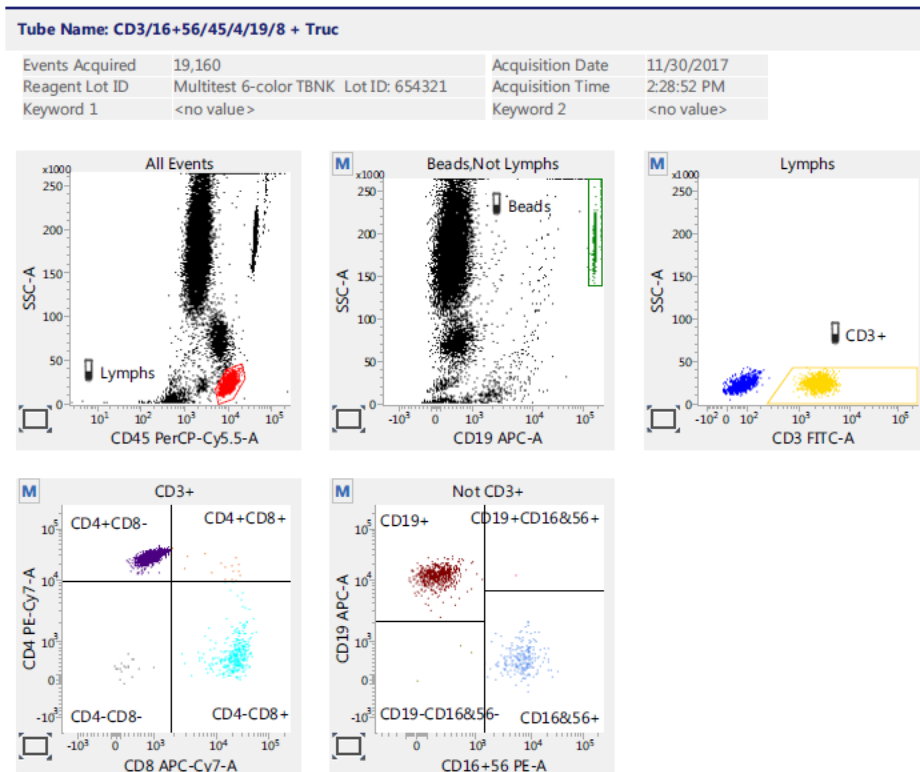
Comments

7. RESULTADOS

Datos representativos

Una muestra de un sujeto adulto normal desde el punto de vista hematológico teñida con BD Multitest™ 6-Color TBNK en un BD Trucount™ Tube se adquirió en un citómetro de flujo BD FACSLyric™. Consulte la figura 1.

Figura 1 Informe de laboratorio de BD FACSLyric™ que muestra los datos recopilados con BD Trucount™ Tubes

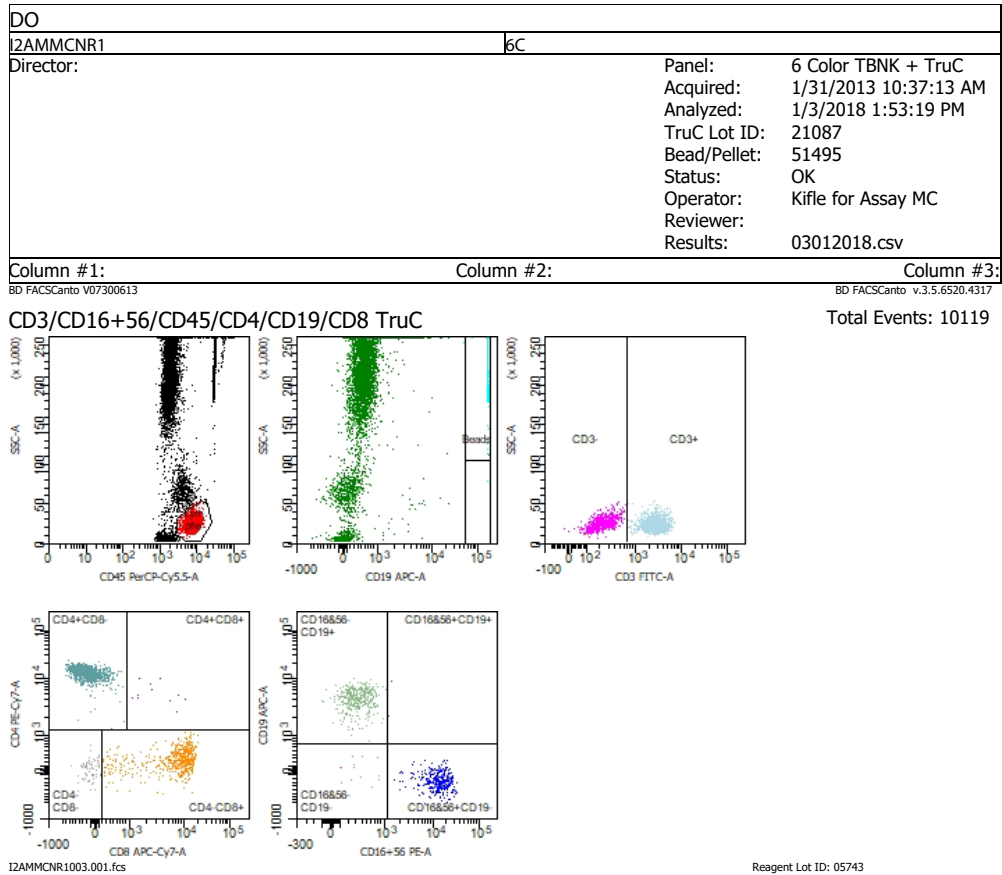


El segundo gráfico de puntos, utilizado para identificar microesferas Trucount™, solo se incluye en el 6-Color TBNK + Truc Lab Report (Informe de laboratorio del ensayo 6-Color TBNK + Truc).

Consulte *BD FACSLyric™ Clinical Reference System* (Sistema de referencia clínica de BD FACSLyric™) para obtener información sobre la definición de áreas de selección y solución de problemas.

Se adquirió una muestra parecida en un citómetro de flujo BD FACSCanto™ II. Consulte la figura 2.

Figura 2 Informe de laboratorio de BD FACSCanto™ II que muestra los datos recopilados con BD Trucount™ Tubes



Las subpoblaciones de linfocitos se identifican utilizando la siguiente estrategia de definición de las áreas de selección:

Gráfico de puntos	Población primaria	Área de selección	Poblaciones identificadas
CD45 PerCP-Cy5.5-A frente a SSC-A	Todos los eventos	Linfocitos	Linfocitos
CD19 APC-A frente a SSC-A	Microesferas, no linfocitos	Microesferas	Microesferas Trucount
CD3 FITC-A frente a SSC-A	Linfocitos	CD3 ⁺	Linfocitos T CD3 ⁺
CD8 APC-Cy7-A frente a CD4 PE-Cy7-A	CD3 ⁺	Cuadrante	CD4 ⁺ CD8 ⁻ CD4 ⁺ CD8 ⁺ CD4 ⁻ CD8 ⁺ CD4 ⁻ CD8 ⁻
CD16+56 PE-A frente a CD19 APC-A	No CD3 ⁺ (CD3 ⁻)	Cuadrante	CD19 ⁺ CD19 ⁺ CD16 y 56 ⁺ CD16 y 56 ⁺ CD19 ⁻ CD16 y 56 ⁻

Cálculo de recuentos absolutos

Cuando se utiliza software de BD específico para citómetro, los resultados muestran las células positivas como un porcentaje de linfocitos. Además, el software utiliza uno de dos métodos posibles para calcular los recuentos absolutos de células positivas por microlitro de sangre (células/ μ l).

Método de plataforma única

Cuando se utilizan BD Trucount™ Tubes, el número absoluto de células positivas en la muestra puede determinarse mediante la comparación de eventos celulares y eventos de microesferas. El software calcula los recuentos absolutos utilizando la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{N.º de eventos en población celular}}{\text{N.º de eventos en la región de microesferas de recuento absoluto}} \times \frac{\text{N.º de microesferas/análisis}}{\text{volumen de análisis}} = \text{recuento absoluto de población celular}$$

El n.º de microesferas/análisis se indica en la etiqueta de la bolsa de papel de aluminio de BD Trucount™ Tubes y varía de un lote a otro.

Método de plataforma doble

Este método se usa cuando se utilizan tubos de poliestireno de 12 x 75 mm (o equivalentes) en lugar de BD Trucount™ Tubes. Al crear la lista de trabajo, introduzca los valores correspondientes a recuento de linfocitos o a recuento absoluto de leucocitos y porcentaje de linfocitos determinado por un analizador de hematología u otro medio. Consulte las instrucciones de uso del instrumento para obtener más información. El software utiliza una de las fórmulas siguientes para calcular el recuento absoluto:

- El usuario proporciona el recuento absoluto de linfocitos por μ l.

$$\frac{\text{N.º de eventos en población celular} \times \text{recuento de linfocitos por } \mu\text{l}}{\text{N.º de linfocitos adquiridos}} = \text{recuento absoluto de población celular}$$

- El usuario proporciona el recuento de leucocitos por μ l y el porcentaje de linfocitos.

$$\frac{\text{N.º de eventos en la población celular} \times \text{recuento de leucocitos} \times (\% \text{ de linfocitos}/100)}{\text{N.º de linfocitos adquiridos}} = \text{recuento absoluto de población celular}$$

NOTA La exactitud de los recuentos absolutos determinados por el método de plataforma doble depende de la exactitud de los valores introducidos en el software.

8. LIMITACIONES

- Es necesario que los laboratorios establezcan sus propios intervalos de referencia normales para las subpoblaciones de linfocitos identificadas con el BD Multitest™ 6-Color TBNK. Es preciso conocer la edad, el sexo, las características clínicas y el origen étnico de los pacientes para determinar un intervalo de referencia.⁶¹ Los intervalos de referencia que se ofrecen son de carácter meramente informativo.
- El BD Multitest™ 6-Color TBNK no está diseñado para la discriminación de muestras por la presencia de células leucémicas, ni para el inmunofenotipaje de muestras de pacientes con leucemia.

- Los recuentos absolutos calculados no son comparables entre laboratorios en los que se utilizan equipos de fabricantes diferentes.
- El BD Multitest™ 6-Color TBNK con BD Trucount™ Tubes no se ha validado por BD Biosciences para su uso con anticoagulantes líquidos con heparina o ácido citrato dextrosa (ACD) para determinar recuentos absolutos.

9. INTERVALOS DE REFERENCIA

Los intervalos de referencia para el BD Multitest™ 6-Color TBNK con y sin BD Trucount™ Tubes se determinaron en un estudio utilizando el citómetro de flujo BD FACSLyric™.⁵⁷ El objetivo del estudio fue establecer los valores del intervalo de referencia del dispositivo en sangre periférica teñida de una cohorte sana de adultos masculinos y femeninos sin anomalías hematológicas. El intervalo de referencia del dispositivo hace referencia a un intervalo específico de la distribución del recuento absoluto de subpoblaciones de linfocitos y los valores porcentuales tomados de una población de referencia biológica. La sangre de una población de sujetos de control sanos se teñió con el BD Multitest™ 6-Color TBNK con BD Trucount™ Tubes. Después, se adquirió y analizó en un citómetro de flujo BD FACSLyric™ usando la aplicación BD FACSuite™ Clinical. Consulte la primera limitación (en la sección anterior) para obtener más información sobre los intervalos de referencia.

Tabla 5 Intervalos de referencia representativos para BD Multitest™ 6-Color TBNK

Subpoblación de linfocitos	N ^a	Unidades	Media	Intervalo del 95 %
CD3 ⁺	134	%	71,95	57,52–83,11
		células/μl	1556,40	856–2669
CD3 ⁺ CD4 ⁺	134	%	46,63	31,45–62,38
		células/μl	1002,75	491–1734
CD3 ⁺ CD8 ⁺	134	%	23,05	9,55–38,32
		células/μl	505,96	162–1074
CD19 ⁺	134	%	13,84	5,89–24,21
		células/μl	298,27	73–562
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	134	%	13,56	5,17–30,36
		células/μl	287,90	108–680

a. N = número de muestras

10. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Manipulación y recogida de muestras (AOB/AOS)

Se realizó un estudio para evaluar la antigüedad de la sangre (AOB) y la antigüedad de la tinción (AOS) utilizando BD Multitest™ 6-Color TBNK con BD Trucount™ Tubes. Se evaluó la estabilidad de la sangre con anticoagulante EDTA determinando el efecto combinado de:

- AOB: duración de tiempo entre la extracción de la muestra y la tinción;
- AOS: duración de tiempo entre la tinción de la muestra (final de la lisis) y la adquisición de la muestra teñida.

Las muestras de sangre periférica se analizaron en al menos las 27 horas posteriores a la extracción y las muestras teñidas se analizaron en al menos las 8 horas posteriores a la tinción. Todas las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente antes de la tinción o la adquisición.

A la vista de los resultados de este estudio, recomendamos realizar la tinción de las muestras en un plazo de 24 horas tras la extracción y analizarlas en un plazo de 6 horas tras la tinción.

Límite de blanco y límite de detección

La capacidad de detección de los reactivos del BD Multitest™ 6-Color TBNK en el citómetro de flujo BD FACSLyric™ se evaluó en un centro. Las muestras se prepararon manualmente o con el sistema BD FACSDuet™. Límite de blanco (LOB) hace referencia a los valores de recuento absoluto aparente más altos que pueden detectarse en una muestra teñida que no contiene linfocitos. Límite de detección (LOD) hace referencia a los valores de recuento absoluto más bajos que pueden detectarse por encima de cero en una muestra teñida con una concentración muy baja de linfocitos CD3⁺CD4⁺.

Para estimar el LOB se utilizaron muestras de plasma sin células. Se utilizaron muestras de plasma que contienen 10 ± 5 CD3⁺CD4⁺ células/μl para estimar el LOD. Se tiñeron sesenta réplicas de cada tipo de muestra manualmente o con el sistema BD FACSDuet™ con cada uno de los tres lotes de reactivos.

Se utilizaron tres citómetros de flujo BD FACSLyric™ para adquirir las muestras preparadas manualmente. En el otro estudio se utilizó como mínimo un sistema BD FACSDuet™ integrado con un citómetro de flujo BD FACSLyric™. En la tabla siguiente se presentan los valores de recuento absoluto de LOB y LOD.

Tabla 6 Capacidad de detección del BD Multitest™ 6-Color TBNK (LOB y LOD)

Subpoblación de linfocitos	Preparación manual de muestras		Preparación de muestras con el sistema BD FACSDuet™	
	LOB (células/μl)	LOD (células/μl)	LOB (células/μl)	LOD (células/μl)
CD3 ⁺	10	12	2	6
CD3 ⁺ CD4 ⁺	2	4	1	4
CD3 ⁺ CD8 ⁺	10	11	2	8
CD19 ⁺	0	1	0	2
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	3	4	0	3

Límite cuantitativo

El límite cuantitativo (LOQ) de los reactivos del BD Multitest™ 6-Color TBNK en el citómetro de flujo BD FACSLyric™ se evaluó en un centro. Las muestras se prepararon manualmente o con el sistema BD FACSDuet™. LOQ hace referencia a los valores de recuento absoluto de linfocitos que pueden detectarse cuantitativamente con la exactitud indicada en muestras que contienen un intervalo de concentraciones de CD3⁺CD4⁺ muy bajas. Se utilizaron muestras de plasma que contienen 10, 20, 30 o 50 CD3⁺CD4⁺ células/μl para estimar el LOQ.

En el estudio sobre el citómetro de flujo BD FACSLyric™, se tiñeron 40 réplicas de muestras de cada uno de los cuatro niveles de concentración utilizando dos lotes de reactivos BD Multitest™ 6-Color TBNK. Para el sistema de comparación, se tiñeron 10 de las 40 réplicas de cada nivel de concentración y se adquirieron en un

citómetro de flujo BD FACSCanto™ II. En el estudio se emplearon tres citómetros de flujo BD FACSLyric™ y un citómetro de flujo BD FACSCanto™ II.

En el estudio en el que se utilizó el sistema BD FACSDuet™, se tiñeron 10 réplicas de cada nivel de concentración con tres lotes de los reactivos utilizando el sistema BD FACSDuet™ y se adquirieron utilizando un citómetro de flujo BD FACSLyric™ integrado. Para el sistema de comparación, se tiñeron manualmente cinco réplicas de cada nivel de concentración con tres lotes de reactivos y se adquirieron en un citómetro de flujo BD FACSLyric™. En el estudio se utilizaron tres sistemas BD FACSDuet™–BD FACSLyric™ integrados y un citómetro de flujo BD FACSLyric™ independiente. En la tabla siguiente se presentan los valores de recuento absoluto de LOQ.

Tabla 7 Capacidad de detección del BD Multitest™ 6-Color TBNK (LOQ)

	Preparación manual de muestras (primer estudio)	Preparación de muestras con el sistema BD FACSDuet™ (segundo estudio)
Subpoblación de linfocitos	LOQ (células/μl)	LOQ (células/μl)
CD3 ⁺	17	18
CD3 ⁺ CD4 ⁺	11	9
CD3 ⁺ CD8 ⁺	11	13
CD19 ⁺	5	7
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	10	12

Citómetro de flujo BD FACSLyric™

Comparación de métodos: citómetro de flujo BD FACSLyric™ frente a BD FACSCanto™ II

Se llevó a cabo un estudio en cinco centros para demostrar la equivalencia entre la adquisición mediante el citómetro de flujo BD FACSLyric™ y el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II. Se obtuvieron muestras de sangre periférica de donantes normales e individuos infectados con el VIH mediante BD Vacutainer® EDTA Blood Collection Tubes. Las muestras se tiñeron con el BD Multitest™ 6-Color TBNK en BD Trucount™ Tubes y se adquirieron en un citómetro de flujo BD FACSLyric™ con la aplicación BD FACSuite™ Clinical. A continuación, se determinaron los porcentajes y los recuentos absolutos de las subpoblaciones de linfocitos. Los resultados se compararon con los resultados de las mismas muestras adquiridas en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II utilizando BD FACSCanto™ Clinical Software.

Las estadísticas de la comparación de métodos se muestran para todas las subpoblaciones de células.⁶² Consulte la siguiente tabla.

Tabla 8 Estadísticas de comparación de métodos para subpoblaciones de linfocitos

Subpoblación de linfocitos	N	Unidades	R ²	Pendiente	Intersección	Intervalo
CD3 ⁺	317	%	0,99	0,99	1,43	0,75–94,18
		células/μl	0,99	1,04	-0,97	4–8013

Subpoblación de linfocitos	N	Unidades	R ²	Pendiente	Intersección	Intervalo
CD3 ⁺ CD4 ⁺	317	%	1,00	1,00	0,34	0,12–81,18
		células/μl	1,00	1,04	-0,79	0–4838
CD3 ⁺ CD8 ⁺	317	%	1,00	1,01	0,09	0,20–82,46
		células/μl	0,99	1,03	0,23	1–5638
CD19 ⁺	317	%	1,00	1,02	-0,29	0–84,8
		células/μl	1,00	1,01	-0,21	0–4442
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	317	%	0,99	0,99	-0,73	0,18–91,87
		células/μl	0,99	0,94	-0,23	0–1907

Comparación de métodos: adquisición con el BD FACS™ Universal Loader frente a adquisición manual

Se realizó un estudio en un centro para determinar la equivalencia entre la adquisición con el BD FACS™ Universal Loader y la adquisición manual. Muestras de sangre periférica se tiñeron por duplicado utilizando tres lotes de BD Multitest™ 6-Color TBNK con BD Trucount™ Tubes. Las muestras teñidas se adquirieron en uno de tres citómetros de flujo BD FACSLyric™ con el BD FACS™ Universal Loader o manualmente.

A continuación, se determinó la media, la diferencia y la diferencia relativa de la adquisición con el BD FACS™ Universal Loader frente a la adquisición manual para los porcentajes y recuentos absolutos de las subpoblaciones de linfocitos. Consulte la siguiente tabla.

Tabla 9 Adquisición con el BD FACS™ Universal Loader frente a adquisición manual

Subpoblación de linfocitos	N	Unidades	Media		Diferencia	Diferencia relativa
			Loader	Manual		
CD3 ⁺	70	%	74,01	74,06	-0,05	-0,04
		células/μl	1429,51	1471,53	-42,01	-2,63
CD3 ⁺ CD4 ⁺	70	%	29,13	29,20	-0,07	-0,18
		células/μl	559,81	578,33	-18,51	-2,68
CD3 ⁺ CD8 ⁺	70	%	42,07	41,84	0,23	0,98
		células/μl	820,44	837,71	-17,27	-1,64
CD19 ⁺	70	%	12,76	12,66	0,10	1,11
		células/μl	237,21	242,13	-4,91	-1,41
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	70	%	12,26	12,29	-0,04	0,45
		células/μl	211,71	215,79	-4,07	-2,16

Equivalencia de ensayo, BD Multitest™ 6-Color TBNK con o sin BD Trucount™ Tubes

Se realizó un estudio en un centro para determinar la equivalencia entre el uso de BD Multitest™ 6-Color TBNK con y sin BD Trucount™ Tubes. Muestras de sangre periférica se tiñeron por duplicado utilizando BD Multitest™ 6-Color TBNK; una réplica se tiñó en un BD Trucount™ Tube y la otra réplica se tiñó en un tubo de poliestireno de 12 x 75 mm. Las muestras teñidas se adquirieron en un citómetro de flujo BD FACSLyric™. En el estudio se utilizó un lote de reactivo BD Multitest™ y tres lotes de BD Trucount™ Tubes.

A continuación, se determinó el porcentaje medio de las subpoblaciones de linfocitos con y sin BD Trucount™ Tubes, la diferencia media y los intervalos de confianza (IC) inferior y superior del 95 %. Consulte la siguiente tabla.

Tabla 10 BD Multitest™ 6-Color TBNK con y sin BD Trucount™ Tubes

Subpoblación de linfocitos	N	% medio de linfocitos		Diferencia relativa o absoluta media (%)	IC inferior del 95 % (%)	IC superior del 95 % (%)
		Con Trucount	Sin Trucount			
CD3 ⁺	33	72,87	72,72	-0,16	-0,68	0,36
CD3 ⁺ CD4 ⁺	33	30,60	30,63	1,03	-0,95	3,01
CD3 ⁺ CD8 ⁺	33	38,03	37,92	-0,14	-1,40	1,11
CD19 ⁺	33	12,45	12,26	-0,19	-0,53	0,15
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	33	13,58	13,86	0,28	-0,01	0,57

Comparación de métodos, BD FACSLyric™ con el sistema BD FACSDuet™ frente a BD FACSLyric™ independiente

Se tomaron muestras de sangre periférica aleatoriamente en tres centros de investigación clínica. Una alícuota de cada muestra se tiñó y analizó con BD Multitest™ 6-Color TBNK en un BD Trucount™ Tube con el sistema BD FACSDuet™. Las muestras teñidas se transfirieron automáticamente a un citómetro de flujo BD FACSLyric™ integrado y se adquirieron con un BD FACS™ Universal Loader y la aplicación BD FACSuite™ Clinical. Una segunda alícuota de cada muestra se tiñó manualmente con los reactivos en un BD Multitest™ 6-Color TBNK en un BD Trucount™ Tube. Las muestras teñidas se adquirieron en un citómetro de flujo BD FACSLyric™ independiente con un BD FACS™ Universal Loader y la aplicación BD FACSuite™ Clinical. Se compararon los resultados entre las muestras preparadas con el sistema BD FACSDuet™ y las muestras preparadas manualmente. Consulte la siguiente tabla.

Tabla 11 Estadísticas de comparación de métodos para subpoblaciones de linfocitos

Subpoblación de linfocitos	N	Unidades	R ²	Pendiente	Intersección	Intervalo
CD3 ⁺	370	%	0,98	1,00	-0,31	45,26-99,14
		células/μl	0,98	1,00	-3,96	89-10 753
CD3 ⁺ CD4 ⁺	370	%	0,99	0,99	0,15	0,27-85,83
		células/μl	0,99	1,00	-1,19	3-7201

Subpoblación de linfocitos	N	Unidades	R ²	Pendiente	Intersección	Intervalo
CD3 ⁺ CD8 ⁺	370	%	0,99	1,00	0,17	1,54–86,88
		células/μl	0,98	1,00	-5,19	50–5083
CD19 ⁺	370	%	0,98	0,99	-0,04	0,13–33,03
		células/μl	0,98	0,99	-0,45	8–1919
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	370	%	0,98	1,01	0,11	0,5–47,54
		células/μl	0,98	1,01	2,18	9–2171

Precisión (repetibilidad), material de control (citómetro de flujo BD FACSLyric™ independiente)

Se llevó a cabo un estudio de precisión de 21 días en un solo centro para evaluar la repetibilidad y la precisión intracentro cuando las muestras se prepararon y adquirieron en el citómetro de flujo BD FACSLyric™ con el sistema de preparación de muestras BD FACSDuet™ utilizando material de control.⁶³ Se realizaron estimaciones de la precisión de la enumeración de porcentajes y recuentos absolutos de subpoblaciones de linfocitos con tres citómetros de flujo BD FACSLyric™ y cuatro operadores, adquiriendo dos concentraciones de analito, CD-Chex Plus[®] control (CDN) y CD-Chex Plus[®] CD4 Low Control (CDL), teñidas por duplicado con cuatro lotes de BD Multitest™ 6-Color TBNK con BD Trucount™ Tubes. Se realizaron dos análisis diferentes durante cada uno de los 21 días de prueba.

En las siguientes tablas se presenta la desviación estándar (DE) o el coeficiente de variación (% CV) de la repetibilidad y la precisión intracentro de los porcentajes y recuentos absolutos de las subpoblaciones de linfocitos con material de control, respectivamente.

Tabla 12 Repetibilidad y precisión intracentro de los porcentajes de subpoblaciones de linfocitos a concentración normal de analito (CDN)

Subpoblación de linfocitos	Media (%)	Repetibilidad (DE)	Precisión intracentro (DE)
CD3 ⁺	77,01	0,88	0,90
CD3 ⁺ CD4 ⁺	48,15	1,52	1,83
CD3 ⁺ CD8 ⁺	21,78	0,78	0,80
CD19 ⁺	12,08	0,60	0,60
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	10,35	0,62	0,63

Tabla 13 Repetibilidad y precisión intracentro de los porcentajes de subpoblaciones de linfocitos a concentración baja de analito (CDL)

Subpoblación de linfocitos	Media (%)	Repetibilidad (DE)	Precisión intracentro (DE)
CD3 ⁺	57,56	1,07	1,09
CD3 ⁺ CD4 ⁺	10,91	0,69	0,73
CD3 ⁺ CD8 ⁺	39,43	1,02	1,05

Subpoblación de linfocitos	Media (%)	Repetibilidad (DE)	Precisión intracentro (DE)
CD19 ⁺	21,92	0,86	0,87
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	19,36	0,87	0,88

Tabla 14 Repetibilidad y precisión intracentro de los recuentos absolutos de subpoblaciones de linfocitos a concentración normal de analito (CDN)

Subpoblación de linfocitos	Media (células/ μ l)	Repetibilidad (% CV)	Precisión intracentro (% CV)
CD3 ⁺	1728,97	4,40	4,47
CD3 ⁺ CD4 ⁺	1081,02	5,17	5,67
CD3 ⁺ CD8 ⁺	488,98	5,91	6,00
CD19 ⁺	271,23	7,19	7,29
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	232,54	7,86	7,95

Tabla 15 Repetibilidad y precisión intracentro de los recuentos absolutos de subpoblaciones de linfocitos a concentración baja de analito (CDL)

Subpoblación de linfocitos	Media (células/ μ l)	Repetibilidad (% CV)	Precisión intracentro (% CV)
CD3 ⁺	866,44	5,23	5,58
CD3 ⁺ CD4 ⁺	164,18	8,03	8,44
CD3 ⁺ CD8 ⁺	593,38	5,42	5,87
CD19 ⁺	329,94	6,32	6,59
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	291,36	6,82	7,00

Precisión (repetibilidad), material de control (citómetro de flujo BD FACSLytic™ con el sistema BD FACSDuet™)

Se llevó a cabo un estudio de 21 días en un solo centro para evaluar la precisión dentro del centro. Se realizaron estimaciones de la precisión de la enumeración de porcentajes y recuentos absolutos de subpoblaciones de linfocitos con tres sistemas BD FACSDuet™, cada uno compuesto por un citómetro de flujo BD FACSLytic™ y al menos tres operadores que adquirieron dos concentraciones de analito, CD-Chex Plus control (CDN) y CD-Chex Plus CD4 Low control (CDL), teñidas por duplicado con tres lotes de BD Multitest™ 6-Color TBNK. Se analizaron dos series distintas durante cada uno de los 21 días de prueba, con un total de 42 series.

En las siguientes tablas se presentan las desviaciones estándar (DE) y los coeficientes de variación (porcentaje de CV) de repetibilidad y precisión intracentro y la repetibilidad de los porcentajes y recuentos absolutos de subpoblaciones de linfocitos, respectivamente.

Tabla 16 Repetibilidad y precisión intracentro de los porcentajes de subpoblaciones de linfocitos a concentración normal de analito (CDN)

Subpoblación de linfocitos	Media (%)	Repetibilidad (DE)	Precisión intracentro (DE)
CD3 ⁺	77,76	0,85	0,85
CD3 ⁺ CD4 ⁺	48,97	0,95	0,96
CD3 ⁺ CD8 ⁺	27,77	0,82	0,95
CD19 ⁺	11,86	0,63	0,64
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	9,88	0,59	0,59

Tabla 17 Repetibilidad y precisión intracentro de los porcentajes de subpoblaciones de linfocitos a concentración baja de analito (CDL)

Subpoblación de linfocitos	Media (%)	Repetibilidad (DE)	Precisión intracentro (DE)
CD3 ⁺	64,11	0,96	0,96
CD3 ⁺ CD4 ⁺	15,02	0,70	0,71
CD3 ⁺ CD8 ⁺	44,16	1,07	1,10
CD19 ⁺	18,31	0,74	0,74
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	16,73	0,77	0,77

Tabla 18 Repetibilidad y precisión intracentro de los recuentos absolutos de subpoblaciones de linfocitos a concentración normal de analito (CDN)

Subpoblación de linfocitos	Media (células/ μ l)	Repetibilidad (% CV)	Precisión intracentro (% CV)
CD3 ⁺	1762,40	5,74	7,98
CD3 ⁺ CD4 ⁺	1109,82	6,97	7,52
CD3 ⁺ CD8 ⁺	630,75	7,77	8,43
CD19 ⁺	268,73	7,34	9,51
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	223,94	7,98	10,28

Tabla 19 Repetibilidad y precisión intracentro de los recuentos absolutos de subpoblaciones de linfocitos a concentración baja de analito (CDL)

Subpoblación de linfocitos	Media (células/ μ l)	Repetibilidad (% CV)	Precisión intracentro (% CV)
CD3 ⁺	746,17	3,85	5,30
CD3 ⁺ CD4 ⁺	174,87	6,39	6,57
CD3 ⁺ CD8 ⁺	514,67	5,17	5,53

Subpoblación de linfocitos	Media (células/ μ l)	Repetibilidad (% CV)	Precisión intracentro (% CV)
CD19 ⁺	213,05	5,52	6,39
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	194,76	5,82	6,98

Precisión (repetibilidad), sangre periférica (citómetro de flujo BD FACSLyric™ independiente)

Se llevó a cabo un estudio de precisión en un solo centro para evaluar la repetibilidad del sistema y la precisión intracentro. En este estudio se utilizaron 44 muestras de sangre periférica obtenida de donantes normales e individuos infectados con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH). Cada muestra se tiñó por duplicado utilizando BD Multitest™ 6-Color TBNK con BD Trucount™ Tubes y, a continuación, se adquirió y analizó en nueve citómetros de flujo BD FACSLyric™.

En las siguientes tablas se presenta la desviación estándar (DE) o el coeficiente de variación (% CV) de la repetibilidad y la precisión intracentro de los porcentajes y recuentos absolutos de las subpoblaciones de linfocitos, respectivamente.

Tabla 20 Repetibilidad y precisión intracentro de los porcentajes de subpoblaciones de linfocitos

Subpoblación de linfocitos	Media (%)	Repetibilidad (DE)	Precisión intracentro (DE)
CD3 ⁺	73,55	0,92	0,93
CD3 ⁺ CD4 ⁺	33,42	0,84	0,84
CD3 ⁺ CD8 ⁺	37,54	0,94	0,95
CD19 ⁺	13,23	0,66	0,66
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	12,49	0,68	0,68

Tabla 21 Repetibilidad y precisión intracentro de los recuentos absolutos de subpoblaciones de linfocitos

Subpoblación de linfocitos	Media (células/ μ l)	Repetibilidad (% CV)	Precisión intracentro (% CV)
CD3 ⁺	1402,64	4,31	4,35
CD3 ⁺ CD4 ⁺	634,13	5,22	5,24
CD3 ⁺ CD8 ⁺	722,11	5,37	5,42
CD19 ⁺	233,55	7,01	7,06
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	218,10	7,54	7,57

Precisión (repetibilidad), sangre periférica (citómetro de flujo BD FACSLyric™ con el sistema BD FACSDuet™)

Se llevó a cabo un estudio de precisión en un solo centro en el que se utilizó sangre periférica de pacientes infectados con VIH y sujetos sanos para evaluar la repetibilidad y la precisión intracentro cuando las

muestras se preparan y adquieren en el citómetro de flujo BD FACSLyric™ con el sistema de preparación de muestras BD FACSDuet™. Cada muestra de donante se tiñó por duplicado con tres lotes de BD Multitest™ 6-Color TBNK en BD Trucount™ Tubes y se procesó en tres instrumentos BD FACSDuet™, cada uno integrado con un citómetro de flujo BD FACSLyric™, con un total de 18 series por muestra.

Tabla 22 Repetibilidad y precisión intracentro de los porcentajes de subpoblaciones de linfocitos

Subpoblación de linfocitos	Media (%)	Repetibilidad (DE)	Precisión intracentro (DE)
CD3 ⁺	76,74	0,97	0,97
CD3 ⁺ CD4 ⁺	31,34	0,93	0,93
CD3 ⁺ CD8 ⁺	43,94	1,03	1,04
CD19 ⁺	12,07	0,72	0,72
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	10,71	0,85	0,86

Tabla 23 Repetibilidad y precisión intracentro de los recuentos absolutos de subpoblaciones de linfocitos

Subpoblación de linfocitos	Media (células/μl)	Repetibilidad (% CV)	Precisión intracentro (% CV)
CD3 ⁺	1610,26	4,17	4,32
CD3 ⁺ CD4 ⁺	657,09	4,92	5,03
CD3 ⁺ CD8 ⁺	927,05	5,17	5,35
CD19 ⁺	251,73	7,47	7,47
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	221,73	10,13	10,41

Precisión (reproducibilidad), material de control (citómetro de flujo BD FACSLyric™ independiente)

Se llevó a cabo un estudio en cuatro centros para evaluar la reproducibilidad del BD Multitest™ 6-Color TBNK. Se facilitó un solo lote de cada material de control, CD-Chex Plus® control (CDN) y CD-Chex Plus® CD4 Low control (CDL), a cada uno de los centros. Para cada tipo de material de control se tiñeron tres réplicas utilizando BD Multitest™ 6-Color TBNK con BD Trucount™ Tubes. Se realizaron dos análisis diferentes durante cada uno de los 5 días no consecutivos de prueba.

En las siguientes tablas se presenta la desviación estándar (DE) o el coeficiente de variación (% CV) de la reproducibilidad de los porcentajes y recuentos absolutos de las subpoblaciones de linfocitos, respectivamente.

Tabla 24 Reproducibilidad de los porcentajes de subpoblaciones de linfocitos a concentración normal de analito (CDN)

Subpoblación de linfocitos	Media (%)	DE
CD3 ⁺	76,98	1,02
CD3 ⁺ CD4 ⁺	51,91	1,09
CD3 ⁺ CD8 ⁺	24,64	1,59

Subpoblación de linfocitos	Media (%)	DE
CD19 ⁺	12,21	0,65
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	10,20	0,75

Tabla 25 Reproducibilidad de los porcentajes de subpoblaciones de linfocitos a concentración baja de analito (CDL)

Subpoblación de linfocitos	Media (%)	DE
CD3 ⁺	57,46	1,14
CD3 ⁺ CD4 ⁺	12,19	0,73
CD3 ⁺ CD8 ⁺	40,47	1,05
CD19 ⁺	21,97	0,84
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	19,31	0,84

Tabla 26 Reproducibilidad de los recuentos absolutos de subpoblaciones de linfocitos a concentración normal de analito (CDN)

Subpoblación de linfocitos	Media (células/ μ l)	% CV
CD3 ⁺	1742,38	5,48
CD3 ⁺ CD4 ⁺	1175,19	5,95
CD3 ⁺ CD8 ⁺	557,86	8,32
CD19 ⁺	276,52	7,72
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	231,03	9,48

Tabla 27 Reproducibilidad de los recuentos absolutos de subpoblaciones de linfocitos a concentración baja de analito (CDL)

Subpoblación de linfocitos	Media (células/ μ l)	% CV
CD3 ⁺	875,81	4,86
CD3 ⁺ CD4 ⁺	185,79	7,28
CD3 ⁺ CD8 ⁺	616,88	5,14
CD19 ⁺	335,03	6,37
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	294,49	6,82

Precisión (reproducibilidad), material de control (citómetro de flujo BD FACSLyric™ con el sistema BD FACSDuet™)

Se llevó a cabo un estudio en tres centros para evaluar la reproducibilidad del BD Multitest™ 6-Color TBNK. Se facilitó un solo lote de cada control de proceso, CD-Chex Plus® control (CDN) y CD-Chex Plus CD4 Low control (CDL), a cada centro. Las muestras de control se tiñeron mediante tres lotes de BD Multitest™ 6-Color TBNK con un lote de BD Trucount™ Tubes utilizando el sistema BD FACSDuet™, se transfirieron automáticamente a un citómetro de flujo BD FACSLyric™ integrado y se adquirieron con el BD FACS™ Universal Loader. Se realizaron dos series diferentes cada día. Se analizaron los resultados obtenidos durante 15 días de análisis no consecutivos.

En las siguientes tablas se indican las desviaciones estándar (DE) y los coeficientes de variación (porcentaje de CV) de la reproducibilidad de los porcentajes y recuentos absolutos de subpoblaciones de linfocitos, respectivamente.

Tabla 28 Reproducibilidad de los porcentajes de subpoblaciones de linfocitos a concentración normal de analito (CDN)

Subpoblación de linfocitos	Media (%)	DE
CD3 ⁺	76,20	0,81
CD3 ⁺ CD4 ⁺	49,82	0,93
CD3 ⁺ CD8 ⁺	25,47	0,88
CD19 ⁺	12,23	0,59
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	11,14	0,59

Tabla 29 Reproducibilidad de los porcentajes de subpoblaciones de linfocitos a concentración baja de analito (CDL)

Subpoblación de linfocitos	Media (%)	DE
CD3 ⁺	57,56	1,04
CD3 ⁺ CD4 ⁺	9,91	0,60
CD3 ⁺ CD8 ⁺	42,97	1,04
CD19 ⁺	21,47	0,84
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	20,17	0,89

Tabla 30 Reproducibilidad de los recuentos absolutos de subpoblaciones de linfocitos a concentración normal de analito (CDN)

Subpoblación de linfocitos	Media (células/μl)	% CV
CD3 ⁺	1959,56	6,08
CD3 ⁺ CD4 ⁺	1281,09	6,23
CD3 ⁺ CD8 ⁺	654,89	6,41
CD19 ⁺	314,41	7,57
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	286,50	8,53

Tabla 31 Reproducibilidad de los recuentos absolutos de subpoblaciones de linfocitos a concentración baja de analito (CDL)

Subpoblación de linfocitos	Media (células/ μ l)	% CV
CD3 ⁺	944,80	6,95
CD3 ⁺ CD4 ⁺	162,68	9,12
CD3 ⁺ CD8 ⁺	705,39	7,04
CD19 ⁺	352,33	7,26
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	331,07	7,99

Linealidad (citómetro de flujo BD FACSLyric™ con y sin el sistema BD FACSDuet™)

La linealidad se evaluó para el citómetro de flujo BD FACSLyric™, con y sin un sistema BD FACSDuet™ integrado, utilizando mediciones por triplicado de 11 concentraciones de leucocitos espaciadas equitativamente. Se observó que las subpoblaciones de linfocitos eran lineales dentro de los intervalos siguientes.

Tabla 32 Intervalos lineales de subpoblaciones de linfocitos

Subpoblación de linfocitos	Intervalo (células/ μ l)	
	BD FACSLyric™	BD FACSLyric™ con BD FACSDuet™
CD3 ⁺	2–5149	5–5282
CD3 ⁺ CD4 ⁺	0–3085	3–3188
CD3 ⁺ CD8 ⁺	7–3578	2–3268
CD19 ⁺	0–2013	0–2295
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	1–1522	1–1287

Intervalo de medición (citómetro de flujo BD FACSLytic™ con y sin el sistema BD FACSDuet™)

Se determinó el intervalo de medición analítico (AMR) para BD Multitest™ 6-Color TBNK en el citómetro de flujo BD FACSLytic™. Para establecer el rango de medida del BD Multitest™ 6-Color TBNK, los datos fueron tomados de lo siguiente:

- Los estudios LOQ utilizando el citómetro de flujo BD FACSLytic™ con y sin el sistema BD FACSDuet™.
- El estudio de comparación de métodos entre los citómetros de flujo BD FACSLytic™ y BD FACSCanto™ II.
- El estudio de comparación de métodos entre el citómetro de flujo BD FACSLytic™ independiente y el BD FACSLytic™ con el sistema BD FACSDuet™.

El límite inferior del AMR se determinó en base a los resultados de los estudios de límite cuantitativo (LoQ), mientras que el límite superior del AMR se determinó según los resultados de los estudios de comparación de métodos.

Tabla 33 AMR de subpoblaciones de linfocitos

Subpoblación de linfocitos	AMR (células/μl)
CD3 ⁺	18–5000
CD3 ⁺ CD4 ⁺	11–3000
CD3 ⁺ CD8 ⁺	11–3000
CD19 ⁺	5–2000
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	10–1200

Citómetro de flujo BD FACSCanto™ II

Comparación de métodos: citómetro de flujo BD FACSCanto™ II frente a BD FACSCanto™

Los porcentajes y los recuentos absolutos de subpoblaciones de linfocitos se cuantificaron con BD Multitest™ 6-Color TBNK en BD Trucount™ Tubes y se analizaron en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II utilizando BD FACSCanto™ Clinical Software v2.1. Los resultados se compararon con los resultados de las mismas muestras analizadas en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ utilizando BD FACSCanto™ Clinical Software v2.0.

Se tomaron muestras de sangre periférica aleatoriamente en dos laboratorios clínicos. Las estadísticas de la comparación de métodos se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 34 Estadísticas de comparación de métodos para porcentajes y recuentos absolutos de subpoblaciones (citómetro de flujo BD FACSCanto™ II frente a BD FACSCanto™)

Subpoblación de linfocitos	N	Unidades	R ²	Pendiente	Intersección	Intervalo
CD3 ⁺	104	células/μl	0,976	0,93	60,19	217–3952
		%	0,971	0,99	1,77	50–92
CD3 ⁺ CD4 ⁺	104	células/μl	0,997	0,94	20,96	6–2079
		%	0,994	1,00	0,47	1–57

Subpoblación de linfocitos	N	Unidades	R ²	Pendiente	Intersección	Intervalo
CD3 ⁺ CD8 ⁺	104	células/μl	0,987	0,93	35,43	62–3462
		%	0,989	1,00	0,44	10–82
CD19 ⁺	104	células/μl	0,980	0,96	4,25	0–820
		%	0,985	1,00	–0,04	0–38
CD3 [–] CD16 ⁺ CD56 ⁺	104	células/μl	0,953	0,91	2,30	15–633
		%	0,964	1,00	–0,50	2–33

Equivalencia de ensayo, BD Multitest™ 6-Color TBNK con o sin BD Trucount™ Tubes

Los porcentajes de subpoblaciones de linfocitos se determinaron utilizando el reactivo BD Multitest™ 6-Color TBNK sin tubos BD Trucount™ Tubes y se analizaron en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II utilizando BD FACSCanto™ Clinical Software v2.4. Los resultados se compararon con los resultados del mismo reactivo con BD Trucount™ Tubes y se analizaron en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II utilizando BD FACSCanto™ Clinical Software v2.2.

Se tomaron muestras de sangre periférica internamente en BD Biosciences. Las estadísticas de la comparación de métodos se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 35 Estadísticas de comparación de métodos para porcentajes y recuentos absolutos de subpoblaciones (BD Multitest™ 6-Color TBNK con y sin BD Trucount™ Tubes)

Subpoblación de linfocitos	N	Unidades	R ²	Pendiente	Intersección	Intervalo
CD3 ⁺	52	%	0,982	1,012	–0,919	36–87
CD3 ⁺ CD4 ⁺	52	%	0,994	0,996	–0,001	1–61
CD3 ⁺ CD8 ⁺	52	%	0,993	1,006	0,310	11–68
CD19 ⁺	52	%	0,985	0,985	0,039	0–35
CD3 [–] CD16 ⁺ CD56 ⁺	52	%	0,986	1,034	–0,485	5–40

Precisión (repetibilidad), material de control (citómetro de flujo BD FACSCanto™ II)

Se llevó a cabo un estudio de 21 días en un solo centro para evaluar la precisión de repetibilidad. Se realizaron estimaciones de la precisión de la enumeración de porcentajes y recuentos absolutos de subpoblaciones de linfocitos con tres instrumentos y al menos cuatro operadores, adquiriendo dos concentraciones de analito, CD-Chex Plus control (CDN) y CD-Chex Plus CD4 Low Control (CDL), teñidas por duplicado con un lote de BD Multitest™ 6-Color TBNK. Se analizaron dos series distintas durante cada uno de los 21 días de prueba, con un total de 42 series.

En las siguientes tablas se proporcionan las DE y los CV de la precisión intracentro y la repetibilidad de los porcentajes y recuentos absolutos de subpoblaciones de linfocitos.

Tabla 36 Repetibilidad y precisión intracentro de los porcentajes de subpoblaciones de linfocitos a concentración normal de analito (CDN)

Subpoblación de linfocitos	Media (%)	Repetibilidad (DE)	Precisión intracentro (DE)
CD3 ⁺	73,1	0,82	0,87
CD3 ⁺ CD4 ⁺	46,3	0,76	0,80
CD3 ⁺ CD8 ⁺	24,0	0,75	0,76
CD19 ⁺	15,3	0,57	0,60
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	10,6	0,57	0,58

Tabla 37 Repetibilidad y precisión intracentro de los porcentajes de subpoblaciones de linfocitos a concentración baja de analito (CDL)

Subpoblación de linfocitos	Media (%)	Repetibilidad (DE)	Precisión intracentro (DE)
CD3 ⁺	54,1	1,32	1,32
CD3 ⁺ CD4 ⁺	10,2	0,47	0,47
CD3 ⁺ CD8 ⁺	39,3	1,10	1,18
CD19 ⁺	26,0	1,07	1,09
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	18,2	0,78	0,80

Tabla 38 Repetibilidad y precisión intracentro de los recuentos absolutos de subpoblaciones de linfocitos a concentración normal de analito (CDN)

Subpoblación de linfocitos	Media (células/ μ l)	Repetibilidad (% CV)	Precisión intracentro (% CV)
CD3 ⁺	2091,5	3,3	3,6
CD3 ⁺ CD4 ⁺	1326,7	3,6	4,0
CD3 ⁺ CD8 ⁺	686,8	4,5	4,5
CD19 ⁺	439,3	5,4	6,0
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	303,7	5,9	6,3

Tabla 39 Repetibilidad y precisión intracentro de los recuentos absolutos de subpoblaciones de linfocitos a concentración baja de analito (CDL)

Subpoblación de linfocitos	Media (células/ μ l)	Repetibilidad (% CV)	Precisión intracentro (% CV)
CD3 ⁺	1074,5	4,2	4,3
CD3 ⁺ CD4 ⁺	202,6	5,1	5,1
CD3 ⁺ CD8 ⁺	780,1	4,9	5,1
CD19 ⁺	516,9	5,6	5,6
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	361,1	5,4	5,6

Precisión sin BD Trucount™ Tubes (citómetro de flujo BD FACSCanto™ II)

Se realizaron estimaciones de la precisión en un centro (BD Biosciences) utilizando dos muestras procesadas por duplicado con dos niveles distintos de concentración de analito. Tres operadores distintos procesaron las muestras en tres instrumentos diferentes (un operador y un instrumento por día). Se analizaron dos series distintas durante cada uno de los 21 días de prueba, con un total de 42 series. Se realizó una calibración con BD FACS™ 7-Color Setup Beads antes de cada serie para un total de 42 series. Durante el estudio se utilizaron un lote de reactivo y un lote de calibrador.

En las tablas siguientes se enumeran las DE de la repetibilidad y la precisión intradispositivo de los porcentajes de subpoblaciones.

Tabla 40 Repetibilidad y precisión intracentro de los porcentajes de subpoblaciones a concentración normal de analito (CDN)

Subpoblación de linfocitos	Media (%)	Repetibilidad (DE)	Precisión intracentro (DE)
CD3 ⁺	72,8	0,81	0,90
CD3 ⁺ CD4 ⁺	46,4	0,73	0,93
CD3 ⁺ CD8 ⁺	23,9	0,58	1,12
CD19 ⁺	14,8	0,50	0,50
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	11,4	0,64	0,66

Tabla 41 Repetibilidad y precisión intracentro de los porcentajes de subpoblaciones a concentración baja de analito (CDL)

Subpoblación de linfocitos	Media (%)	Repetibilidad (DE)	Precisión intracentro (DE)
CD3 ⁺	52,4	1,03	1,34
CD3 ⁺ CD4 ⁺	11,0	0,56	0,77
CD3 ⁺ CD8 ⁺	37,3	0,80	1,66
CD19 ⁺	26,1	0,70	0,73
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	19,5	0,72	0,84

Linealidad (citómetro de flujo BD FACSCanto™ II)

La linealidad del ensayo BD Multitest™ 6-Color TBNK con BD Trucount™ Tubes se evaluó para el sistema BD FACSCanto™ II dentro de una concentración de leucocitos de 0 a $3,8 \times 10^4$ células/ μ l. Se observó que los resultados eran lineales dentro del intervalo siguiente.

Tabla 42 Intervalos lineales de subpoblaciones de linfocitos

Subpoblación de linfocitos	Intervalo (células/ μ l)
CD3 ⁺	6-7382
CD3 ⁺ CD4 ⁺	1-4494

Tabla 42 Intervalos lineales de subpoblaciones de linfocitos (continuación)

Subpoblación de linfocitos	Intervalo (células/ μ l)
CD3 ⁺ CD8 ⁺	2–2922
CD19 ⁺	0–863
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	0–435

11. SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Problema	Posible causa	Solución
Escasa diferenciación entre residuos y leucocitos.	Interacción celular con otras células y plaquetas.	Preparar y teñir otra muestra.
	Manipulación poco cuidadosa durante la preparación celular.	Verificar la viabilidad celular. Centrifugar las células a menor velocidad.
	Parámetros del instrumento inadecuados.	Seguir los procedimientos correctos de calibración del instrumento. Optimizar los parámetros del instrumento según sea necesario.
Tinción débil o decayendo.	Concentración celular excesiva en la etapa de tinción.	Comprobar y ajustar la concentración de células o el volumen de la muestra. Teñir con una muestra nueva.
	Reactivo insuficiente.	Repetir la tinción con una cantidad mayor de anticuerpo.
	Células no analizadas en las 24 horas siguientes a la tinción.	Repetir la tinción con una muestra nueva. Analizarla rápidamente.
Pocas células o ninguna.	Concentración celular demasiado baja.	Volver a poner en suspensión una muestra nueva a una concentración más alta. Repetir la tinción y el análisis.
	Funcionamiento incorrecto del citómetro.	Seguir las instrucciones para la solución de problemas del instrumento.

REFERENCIAS

1. Cossarizza A, De Biasi S, Gibellini L, et al. Cytometry, immunology, and HIV infection: three decades of strong interactions. *Cytometry. Part A: the Journal of the International Society for Analytical Cytology*. 2013;83(8):680-691.
2. Hanson IC, Shearer WT. Ruling out HIV infection when testing for severe combined immunodeficiency and other T-cell deficiencies. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129(3):875-876.e875.
3. Oliveira JB, Fleischer TA. Molecular- and flow cytometry-based diagnosis of primary immunodeficiency disorders. *Current Allergy and Asthma Reports*. 2010;10(6):460-467.

4. Rich RR, Chaplin DD. The Human Immune Response. In: Rich RR, Fleischer TA, Shearer WT, Schroeder HW, Frew AJ, Weyand CM, eds. *Clinical Immunology (Fifth Edition)*. London: Content Repository Only; 2019:3-17.e11.
5. Haynes BF. Summary of T-cell studies performed during the Second International Workshop and Conference on Human Leukocyte Differentiation Antigens. In: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID, eds. *Leukocyte Typing II: Human T Lymphocytes*. Vol 1. New York, NY: Springer-Verlag; 1986:3-30.
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. Schmidt RE. Non-lineage/natural killer section report: new and previously defined clusters. In: Knapp W, Dörken B, Gilks WR, et al, eds. *Leucocyte Typing IV: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1989:517-542.
8. 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.
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. 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: T2 protocol. In: Bernard A, Boumsell L, Dausset J, Milstein C, Schlossman SF, eds. *Leucocyte Typing*. New York, NY: Springer-Verlag; 1984:25-60.
11. Evans RL, Wall DW, Platsoucas CD, et al. Thymus-dependent membrane antigens in man: inhibition of cell-mediated lympholysis by monoclonal antibodies to T_{H2} antigen. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1981;78:544-548.
12. Wood GS, Warner NL, Warnke RA. Anti-Leu-3/T4 antibodies react with cells of monocyte/macrophage and Langerhans lineage. *J Immunol*. 1983;131:212-216.
13. 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.
14. van Dongen JJM, Krissansen GW, Wolvers-Tettero ILM, et al. Cytoplasmic expression of the CD3 antigen as a diagnostic marker for immature T-cell malignancies. *Blood*. 1988;71:603-612.
15. Clevers H, Alarcón B, Wileman T, Terhorst C. The T cell receptor/CD3 complex: a dynamic protein ensemble. *Annu Rev Immunol*. 1988;6:629-662.
16. Reichert T, DeBruyère M, Deneys V, et al. Lymphocyte subset reference ranges in adult Caucasians. *Clin Immunol Immunopath*. 1991;60:190-208.
17. Perussia B, Starr S, Abraham S, Fanning V, Trinchieri G. Human natural killer cells analyzed by B73.1, a monoclonal antibody blocking Fc receptor functions. I. Characterization of the lymphocyte subset reactive with B73.1. *J Immunol*. 1983;130:2133-2141.
18. Perussia B, Acuto O, Terhorst C, et al. Human natural killer cells analyzed by B73.1, a monoclonal antibody blocking Fc receptor functions. II. Studies of B73.1 antibody-antigen interaction on the lymphocyte membrane. *J Immunol*. 1983;130:2142-2148.
19. Perussia B, Trinchieri G, Jackson A, et al. The Fc receptor for IgG on human natural killer cells: phenotypic, functional, and comparative studies with monoclonal antibodies. *J Immunol*. 1984;133:180-189.
20. 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.
21. Lanier LL, Chang C, Azuma M, Ruitenberg JJ, Hemperly JJ, Phillips JH. Molecular and functional analysis of human natural killer cell-associated neural cell adhesion molecule (N-CAM/CD56). *J Immunol*. 1991;146:4421-4426.

22. Schubert J, Lanier LL, Schmidt RE. Cluster report: CD56. In: Knapp W, Dörken B, Gilks WR, et al, eds. *Leucocyte Typing IV: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1989:699-702.
23. Cunningham BA, Hemperly JJ, Murray BA, Prediger EA, Brackenbury R, Edelman GM. Neural cell adhesion molecule: structure, immunoglobulin-like domains, cell surface modulation, and alternative RNA splicing. *Science*. 1987;236:799-806.
24. Schwinzer R. Cluster report: CD45/CD45R. In: Knapp W, Dörken B, Gilks WR, et al, eds. *Leucocyte Typing IV: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1989:628-634.
25. Jackson A. Basic phenotyping of lymphocytes: selection and testing of reagents and interpretation of data. *Clin Immunol Newslett*. 1990;10:43-55.
26. Dalgleish AG, Beverley PCL, Clapham PR, Crawford DH, Greaves MF, Weiss RA. The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. *Nature*. 1984;312:763-767.
27. Maddon PJ, Dalgleish AG, McDougal JS, Clapham PR, Weiss RA, Axel R. The T4 gene encodes the AIDS virus receptor and is expressed in the immune system and the brain. *Cell*. 1986;47:333-348.
28. Moldenhauer G, Dörken B, Schwartz R, Pezzutto A, Knops J, Hammerling GJ. Analysis of ten B lymphocyte-specific workshop monoclonal antibodies. In: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID, eds. *Leucocyte Typing II: Human B Lymphocytes*. New York, NY: Springer-Verlag; 1986;2:61-67.
29. Dörken B, Möller P, Pezzutto A, Schwartz-Albiez R, Moldenhauer G. B-cell antigens: CD19. In: Knapp W, Dörken B, Gilks WR, et al, eds. *Leucocyte Typing IV: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1989:34-36.
30. Loken MR, Shah VO, Dattilio KL, Civin CI. Flow cytometric analysis of human bone marrow. II. Normal B-lymphocyte development. *Blood*. 1987;70:1316-1324.
31. Gallagher PF, Fazekas de St. Groth B, Miller JFAP. CD4 and CD8 molecules can physically associate with the same T-cell receptor. *Proc Natl Acad Sci, USA*. 1989;86:10044-10048.
32. Anderson P, Blue M-L, Morimoto C, Schlossman SF. Cross-linking of T3 (CD3) with T4 (CD4) enhances the proliferation of resting T lymphocytes. *J Immunol*. 1987;139:678-682.
33. Eichmann K, Jönsson J-I, Falk I, Emmrich F. Effective activation of resting mouse T lymphocytes by cross-linking submitogenic concentrations of the T cell antigen receptor with either Lyt-2 or L3T4. *Eur J Immunol*. 1987;17:643-650.
34. Lanier LL, Le AM, Phillips JH, Warner NL, Babcock GF. Subpopulations of human natural killer cells defined by expression of the Leu-7 (HNK-1) and Leu-11 (NK-15) antigens. *J Immunol*. 1983;131:1789-1796.
35. *Collection of Diagnostic Venous Blood Specimens, 7th ed*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017. CLSI document GP41.
36. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline—Fourth Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014. CLSI document M29-A4.
37. 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.
38. Nicholson JK, Browning SW, Orloff SL, McDougal JS. Inactivation of HIV-infected H9 cells in whole blood preparations by lysing/fixing reagents used in flow cytometry. *J Immunol Methods*. 1993;160:215-218.
39. Giorgi JV. Lymphocyte subset measurements: significance in clinical medicine. In: Rose NR, Friedman H, Fahey JL, eds. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*. 3rd ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1986:236-246.
40. Neves I Jr, Morgado MG. Immunological evaluation of human immunodeficiency virus infected individuals by flow cytometry. *Mem Inst Oswaldo Cruz Rio de Janeiro*. 2000;95(3):393-400.
41. Giacoia-Gripp CBW, Sales AM, Nery JA, et al. Evaluation of cellular phenotypes implicated in immunopathogenesis and monitoring immune reconstitution inflammatory syndrome in HIV/leprosy cases. *PLoS One*. 2011;6(12):e28735.
42. Ostrov BE, Amsterdam D. The interference of monoclonal antibodies with laboratory diagnosis: clinical and diagnostic implications. *Immunol Invest*. 2013;42(8):673-690.

-
43. Book BK, Agarwal A, Milgrom et al. New crossmatch technique eliminates interference by humanized and chimeric monoclonal antibodies. *Transplant Proc.* 2005;37(2):640-642.
 44. Kaufman A, Herold KC. Anti-CD3 mAbs for treatment of type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev.* 2009;25(4):302-306.
 45. Frankel AE, Zuckero SL, Mankin AA, et al. Anti-CD3 recombinant diphtheria immunotoxin therapy of cutaneous T cell lymphoma. *Curr Drug Targets.* 2009; 10(2):104-109.
 46. Kochenderfer JN, Dudley ME, Feldman SA, Rosenberg SA. B-cell depletion and remissions of malignancy along with cytokine-associated toxicity in a clinical trial of anti-CD19 chimeric antigen-receptor-transduced T cells. *Blood.* 2012;119(12):2709-2720.
 47. Mendez LM, Cascino MD, Garg J, Brunetta P. Peripheral blood B cell depletion after Rituximab and complete response in lupus nephritis. *Clin J Amer Soc Neph.* 2018;13(10):1502-1509.
 48. Centers for Disease Control. Guidelines for Performing Single-Platform Absolute CD4+ T-Cell Determinations with CD45 Gating for Persons Infected with Human Immunodeficiency Virus. *MMWR.* 2003;52:3.
 49. Craig FE, Foon MA. Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. *Blood.* 2008;111:3941-3967.
 50. Kroll MH. Evaluating interference caused by lipemia. *Clin Chemistry.* 2004;50.
 51. Nikolac N. Lipemia: causes, interference mechanisms, detection and management. *Biochem Med (Zagreb).* 2014;24(1):57-67.
 52. Dimeski G. Interference testing. *Clin Biochem Rev.* 2008;29:S43-48.
 53. Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline—Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018. CLSI document EP07-A3.
 54. Selby C. Interference in immunoassay. *Ann Clin Biochem.* 1999;36 (Pt 6):704-721.
doi:10.1177/000456329903600603
 55. Htun NM, Chen YC, Lim B, et al. Near-infrared autofluorescence induced by intraplaque hemorrhage and heme degradation as marker for high-risk atherosclerotic plaques. *Nat Commun.* 2017;8(1):75. Published 2017 Jul 13. doi:10.1038/s41467-017-00138-x
 56. Mandy FF, Nicholson JK, McDougal JS; CDC. Guidelines for performing single-platform absolute CD4+ T-cell determinations with CD45 gating for persons infected with human immunodeficiency virus. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep.* 2003;52(RR-2):1-13.
 57. Kroll MH. Evaluating interference caused by lipemia. *Clin Chemistry.* 2004;50.
 58. Nikolac N. Lipemia: causes, interference mechanisms, detection and management. *Biochem Med (Zagreb).* 2014;24(1):57-67.
 59. *Enumeration of Immunologically Defined Cell Populations by Flow Cytometry—Second Edition.* Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007. CLSI document H42-A2.
 60. Jackson AL, Warner NL. Preparation, staining, and analysis by flow cytometry of peripheral blood leukocytes. In: Rose NR, Friedman H, Fahey JL, eds. *Manual of Clinical Laboratory Immunology.* 3rd ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1986:226-235.
 61. *Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline—Third Edition.* Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010. CLSI document EP28-A3c.
 62. *Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline—Third Edition.* Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013. CLSI document EP09-A3.
 63. *Evaluation of Precision of Quantitative Measurements Procedures; Approved Guideline—Third Edition.* Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014. CLSI document EP05-A3.

AVISO

Solo la UE: Los usuarios deben notificar los incidentes graves relacionados con el dispositivo al fabricante y a la autoridad competente nacional.

Fuera de la UE: Póngase en contacto con el representante local de BD para cualquier incidente o consulta relativa a este dispositivo.

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 alguna de las condiciones generales de venta de BD para clientes fuera de Estados Unidos, se aplica la garantía siguiente a la compra de estos productos.

SE GARANTIZA ÚNICAMENTE QUE LOS PRODUCTOS VENDIDOS SE AJUSTAN A LA CANTIDAD Y AL CONTENIDO INDICADOS EN LA ETIQUETA, O EN EL ETIQUETADO DEL PRODUCTO, EN EL MOMENTO DE SUMINISTRARLO AL COMPRADOR. POR EL PRESENTE, BD RENUNCIA A CUALQUIER OTRA GARANTÍA, EXPRESA O IMPLÍCITA, INCLUIDAS LAS GARANTÍAS DE COMERCIALIZACIÓN E IDONEIDAD PARA UN FIN DETERMINADO Y DE NO INFRACCIÓN. LA ÚNICA RESPONSABILIDAD DE BD QUEDA LIMITADA A LA SUSTITUCIÓN DE LOS PRODUCTOS O AL REEMBOLSO DEL PRECIO DE COMPRA. BD NO ES RESPONSABLE DE LOS DAÑOS A LA PROPIEDAD NI DE NINGÚN DAÑO ACCIDENTAL O DERIVADO, INCLUIDOS DAÑOS PERSONALES O PÉRDIDAS ECONÓMICAS CAUSADOS POR EL PRODUCTO.

MARCAS COMERCIALES

BD, el logotipo de BD, BD FACSDuet, BD FACSLyric, BD FACSuite, BD Multi-Check, BD Multitest, BD Trucount, FACS, FACSCanto y Vacutainer son marcas comerciales de Becton, Dickinson and Company o de sus empresas afiliadas. Las demás marcas comerciales son propiedad de sus respectivos propietarios.

© 2022 BD. Todos los derechos reservados.

Cy™ es una marca comercial de GE Healthcare. Este producto está sujeto a los derechos de propiedad de GE Healthcare y Carnegie Mellon University, y se fabrica y vende bajo licencia de GE Healthcare. La venta de este producto solo está autorizada para 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 el material sin abrir a BD Biosciences, 2350 Qume Drive, San José, CA 95131, y se le reintegrará el importe desembolsado por el material.

HISTORIAL

Revisión	Fecha	Cambios realizados
23-10834(13)	2022-06	Actualización para cumplir los requisitos del Reglamento (UE) 2017/746.

GLOSARIO DE SÍMBOLOS [L006715(06) 2021-08]

Es posible que algunos de los símbolos que figuran a continuación no se apliquen a este producto.

Solo para clientes de EE. UU.: Para consultar el glosario de símbolos, visite bd.com/symbols-glossary

Símbolo	Significado
	Fabricante
	Representante autorizado en la Unión Europea
	Representante autorizado en Suiza
	Fecha de fabricación
	Fecha de caducidad
	Código de lote
	Número de catálogo
	Número de serie
	Estéril
	Esterilizado utilizando técnicas de procesado asépticas
	Esterilizado utilizando óxido de etileno
	Esterilizado utilizando radiación
	Esterilizado utilizando vapor de agua o calor seco
	No volver a esterilizar
	No estéril
	No utilizar si el envase está dañado y consúltense las <i>instrucciones de uso</i>
	Vía fluida estéril
	Vía fluida estéril (óxido de etileno)
	Vía fluida estéril (irradiación)
	Frágil, manejar con cuidado
	Manténgase fuera de la luz del sol
	Manténgase seco
	Límite inferior de temperatura
	Límite superior de temperatura
	Límite de temperatura
	Limitación de humedad
	Riesgos biológicos
	No reutilizar
	Consúltense las <i>instrucciones de uso</i> o consúltense las <i>instrucciones de uso</i> electrónicas
	Precaución
	Contenido o presencia de látex de caucho natural
	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Control negativo
	Control positivo
	Contenido suficiente para <n> pruebas
	Sólo para la evaluación del funcionamiento en diagnóstico in vitro
	Apirógeno

Símbolo	Significado
	Número de paciente
	Este lado hacia arriba
	No apilar
	Sistema de barrera estéril única
	Contenido o presencia de ftalato: combinación de di(2-etilhexil) ftalato (DEHP) y butilencilftalato (BBP)
	Recoger por separado Indica la recogida por separado obligatoria de los residuos de aparatos eléctricos y electrónicos.
	Marcado CE; significa que cumple con la especificación técnica europea
	Prueba diagnóstica en el lugar de asistencia al paciente
	Producto para autodiagnóstico
	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».
	País de fabricación «CC» debe sustituirse por el código de país de dos o tres letras.
	Hora de recogida
	Cortar
	Despegar por aquí
	Fecha de recogida
	Manténgase fuera de la luz
	Se produce gas de hidrógeno
	Perforación
	Número de secuencia del panel de inicio
	Número de secuencia del panel final
	Número de secuencia interno
	Producto sanitario
	Contiene sustancias peligrosas
	Marca de conformidad ucraniana
	Cumple los requisitos de la FCC conforme a 21 CFR Parte 15
	Certificación de producto UL para EE. UU. y Canadá
	Identificador único de dispositivo

INFORMACIÓN DE CONTACTO



Becton, Dickinson and Company
BD Biosciences
2350 Qume Drive
San Jose, California 95131 USA

EC REP

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

CH REP

BD Switzerland Sàrl
Terre Bonne Park – A4
Route de Crassier 17
1262 Eysins, 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



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

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: BECTON DICKINSON ARGENTINA SRL. RÓTULOS E INSTRUCCIONES DE USO

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 45 pagina/s.

Digitally signed by Gestion Documental Electronica
Date: 2023.04.13 11:27:45 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2023.04.13 11:27:46 -03:00



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

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-007920-22-0

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

Expediente Nº 1-0047-3110-007920-22-0

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

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre Descriptivo: Reactivo para citometría

Marca comercial: BD Multitest™

Modelos:

644611 -BD Multitest™ 6-color TBNK

337166 – BD Multitest™ 6-color TBNK con BD Trucount™ tubes

Indicación/es de uso:

El reactivo™ BD Multitest™ 6-Color TBNK con BD Trucount™ Tubes opcionales es un reactivo de

inmunofluorescencia directa de seis colores que se utiliza para identificar y determinar los porcentajes y los recuentos absolutos de linfocitos T, B y citolíticos naturales (NK), así como las subpoblaciones de linfocitos TCD4 y CD8 en sangre periférica con un citómetro de flujo de BD equipado de esta forma:

- Un láser azul de al menos 488 nm y un láser rojo de 640 nm
- Capacidad para detectar dispersión frontal (FSC) y dispersión lateral (SSC)
- Fluorescencia de al menos 6 colores
- Software para obtener y analizar los datos

Forma de presentación: 337166 – BD Multitest™ 6-color TBNK con BD Trucount™ tubes - 50 pruebas
644611 - BD Multitest™ 6-color TBNK - 50 pruebas

Período de vida útil: 14 meses - temperatura de conservación 2–8 °C.

Nombre del fabricante:
Becton Dickinson Caribe

Lugar de elaboración:
Becton Dickinson Caribe, LTD, Vicks Drive, Lot 1 Corner
Road 735, Cayey, 00736, Puerto Rico, USA para Becton, Dickinson and Company, BD
Biosciences, 2350 Qume Drive, San Jose, CA 95131, USA

Grupo de Riesgo: Grupo C

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO PM 634-629 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

Expediente N° 1-0047-3110-007920-22-0

N° Identificadorio Trámite: 44389

AM