



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
AÑO DE LA DEFENSA DE LA VIDA, LA LIBERTAD Y LA PROPIEDAD

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-000101-23-9

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-000101-23-9 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, Nombre descriptivo: Reactivos para citometria.

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;

LA ADMINISTRADORA 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, Nombre descriptivo: Reactivos para citometria, 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°.- Autorízanse los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2024-66579135-APN-INPM#ANMAT .

ARTÍCULO 3°.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 634-612 ", 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. Inscríbese en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica al nuevo producto. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con rótulos e instrucciones de uso autorizados y el Certificado mencionado en el artículo 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: Reactivos para citometria

Marca comercial: BD®, BD™

Modelos:

1. BD® Stem Cell Enumeration Kit
2. BD™ Stem Cell Control
3. BD® Stem Cell Enumeration Assay Module

Indicación/es de uso:

El BD® Stem Cell Enumeration Kit está diseñado para la enumeración de poblaciones de células madre hematopoyéticas CD45+/CD34+ dobles positivas viables con el objetivo de determinar los recuentos absolutos (células/l) de células CD34+ viables, así como el porcentaje de células madre hematopoyéticas CD45+/CD34+ viables (% CD34) para contribuir a la evaluación de calidad de los productos celulares utilizados en el proceso de

trasplante de células madre hematopoyéticas, que incluye la preparación y el trasplante de los productos celulares con un citómetro de flujo BD equipado con:

- un láser azul de 488 nm y un láser rojo de 640 nm
- capacidad para detectar dispersión frontal (FSC) y dispersión lateral (SSC)
- fluorescencia de al menos cuatro colores
- software para obtener y analizar los datos

Cuando se utiliza con un citómetro de flujo BD, se pueden analizar los siguientes productos celulares (muestras):

- sangre periférica normal y movilizada
- productos de leucoféresis frescos y descongelados
- médula ósea fresca y descongelada
- sangre de cordón fresca y descongelada

El BD® Stem Cell Enumeration Kit está diseñado exclusivamente para uso diagnóstico in vitro por profesionales de laboratorio.

El BD® Stem Cell Control está diseñado como sistema de control del proceso en dos niveles con valores cuantitativos asignados para su uso en el inmunofenotipaje mediante un citómetro de flujo BD. Se trata de un sistema de control para la tinción de anticuerpos, lisis de eritrocitos, calibración de instrumentos y análisis de datos si se utiliza junto con el BD® Stem Cell Enumeration Kit.

Forma de presentación: 1. El BD® Stem Cell Enumeration Kit es suficiente para 50 análisis. El kit contiene los siguientes componentes: BD® Stem Cell Reagent, 7-AAD, Solución de lisado de cloruro de amonio 10X., BD Trucount™ Tubes: Se incluyen dos bolsas, cada una con 25 tubos de un solo uso.

2. BD™ Stem Cell Control: dos viales x 2 ml

3. BD® Stem Cell Enumeration Assay Module: Por unidad.

Período de vida útil y condición de conservación: 1) El reactivo BD® Stem Cell Enumeration Kit es estable por 24 (Veinticuatro) meses. Almacene el BD® Stem Cell Reagent (CD45/CD34) a una temperatura de 2–8° C. Conserve el reactivo 7-AAD a una temperatura de 2–8° C y protéjalo de la luz. 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. Use los tubos en el plazo de 1 hora después de extraerlos de la bolsa de papel de aluminio. Use el resto de los tubos en el plazo de 1 mes después de la apertura de la bolsa.

2) El reactivo BD™ Stem Cell Control es estable por 45 (cuarenta y cinco) días cuando se conserva entre 2 a 8° C.

Nombre del fabricante:

Para el BD® Stem Cell Enumeration Kit:

Fabricante legal:

1. Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences.
2. Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences.

Fabricante Real:

2. Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences.
3. Becton Dickinson Caribe, LTD.

Para el BD™ Stem Cell Control

Fabricante legal:

1. Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences.

2. Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences.

Fabricante Real:

4. R & D Systems, Inc.

Para el BD® Stem Cell Enumeration Assay Module:

1. Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences.

2. Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences.

Lugar de elaboración:

1. 155 North McCarthy Boulevard, Milpitas, CA 95035, Estados Unidos.

2. 2350 Qume Drive, San José, CA 95131, Estados Unidos.

3. Vicks Drive, Lot 1 Corner Road 735, Cayey, 00736, Puerto Rico, Estados Unidos.

4. 614 McKinley PL, N.E. Minneapolis, MN 55413, Estados Unidos.

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

N° 1-0047-3110-000101-23-9

N° Identificadorio Trámite: 45396

AM

Digitally signed by PEARSON Enriqueta María
Date: 2024.06.28 18:07:02 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.06.28 18:07:04 -03:00

Rótulos Internos

BD® Stem Cell Enumeration Kit. Fabricante legal: Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences, 155 North McCarthy Boulevard, Milpitas, CA 95035, Estados Unidos.

BD Trucount™ Tubes

Date Opened:

Дата на отваряне, Datum otvaranja, Datum otevření, Dato for åbning, Avamiskuupäev, 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



R_x Only

Bead Count:

Брой микросфери, Broj mikročestica, Počet kuliček, Beadantal, Graanulite arv, Nombre de billes, Bead-Anzahl, Αριθμός σφαιριδίων, Gyöngyszám, Numero di microsfero, Гранулалар саны, Mikrosfëru skalts, Granulių skaičius, Antall kuler, Liczba kulek, Contagem de esferas, Număr de răcături, Количество гранул, Број гранула, Počet guľôčok, Recuento de microesferas, Partikelantal, Boncuk Sayısı, Кількість часток



LOT

BD, the BD Logo and BD Trucount are trademarks of Becton, Dickinson and Company or its affiliates.
© 2023 BD. All rights reserved.

Made in USA
91-0786/23-3823-13


ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
CoDirector Técnico - Apoderado

 **BD Trucount™ Tube**

LOT XXXXXX 



 **Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences**
155 North McCarthy Boulevard, Milpitas, California 95035 USA
© 2023 BD. All rights reserved. 23-6092-07

 **BD Ammonium Chloride Lysing Solution**
10x

 **IVD**  2 °C - 8 °C

eifu.bd.com

 **Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences**
155 North McCarthy Boulevard, Milpitas, California 95035 USA
BD and the BD Logo are trademarks of Becton, Dickinson and Company or its affiliates. © 2023 BD. All rights reserved. Made in USA
91-0693/23-8121-05

YYYY-MM-DD
XXXXXX
 **LOT**

 **BD 7-AAD**

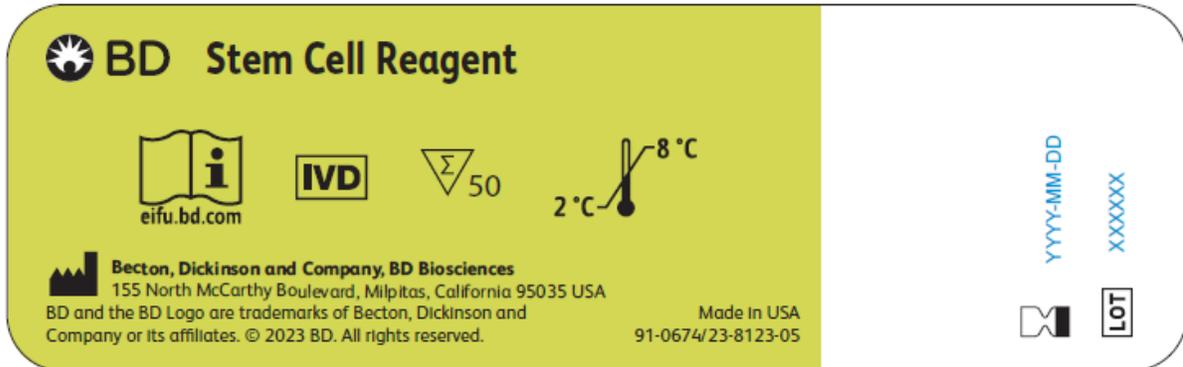
 50  **IVD**  2 °C - 8 °C

eifu.bd.com

 **Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences**
155 North McCarthy Boulevard
Milpitas, California 95035 USA
BD and the BD Logo are trademarks of Becton, Dickinson and Company or its affiliates. © 2023 BD. All rights reserved. Made in USA
91-0675/23-8122-05

YYYY-MM-DD
XXXXXX
 **LOT**


ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
CoDirector Técnico - Apoderado



BD® Stem Cell Enumeration Kit. BD® Stem Cell Enumeration Kit. Fabricante legal:
Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences, 2350 Qume Drive, San José, CA
95131, Estados Unidos.

BD Trucount™ Tubes

Date Opened:

Дата на отваряне, Datum otvaranja, Datum otevření, Dato for åbning, Avamiskuupäiv, 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, Broj mikročestica, Počet kuliček, Beadantal, Graanulite arv, Nombre de billes, Bead-Anzahl, Αριθμός σφαιρίδιων, Gyöngyszám, Numero di microsfere, Гранулалар саны, Mikrosfèru skaits, Granulių skaičius, Antall kuler, Liczba kulek, Contagem de esferas, Număr de picături, Количество гранул, Број гранула, Počet guľčok, Recuento de microesferas, Partikelantal, Boncuk Sayısı, Кількість часток




ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
CoDirector Técnico - Apoderado

 **BD 7-AAD**

 Σ 50 

2°C  8°C 

 **Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences**
2350 Qume Drive, San Jose, CA 95131 USA
BD and the BD Logo are trademarks of Becton,
Dickinson and Company or its affiliates. Made in USA
© 2020 BD. All rights reserved. 91-0675/23-8122-03

 **BD Ammonium Chloride Lysing Solution**
10x

  2°C  8°C

 **Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences**
2350 Qume Drive, San Jose, CA 95131 USA
BD and the BD Logo are trademarks of Becton, Dickinson and
Company or its affiliates. © 2020 BD. All rights reserved. Made in USA
91-0693/23-8121-03

 **BD Stem Cell Reagent**

   2°C  8°C

 **Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences**
2350 Qume Drive, San Jose, CA 95131 USA
BD and the BD Logo are trademarks of Becton, Dickinson and
Company or its affiliates. © 2020 BD. All rights reserved. Made in USA
91-0674/23-8123-03


ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
CoDirector Técnico - Apoderado

BD® Stem Cell Control. Fabricante legal: Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences, 155 North McCarthy Boulevard, Milpitas, CA 95035, Estados Unidos.

 **BD Stem Cell Control CD34+ Low**

   2.0 mL    YYY-MM-DD
XXXXXX

 Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences
155 North McCarthy Boulevard, Milpitas, California 95035 USA
BD and the BD Logo are trademarks of Becton, Dickinson and Company or its affiliates. © 2023 BD. All rights reserved. 23-4888-06  

 **BD Stem Cell Control CD34+ High**

   2.0 mL    YYY-MM-DD
XXXXXX

 Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences
155 North McCarthy Boulevard, Milpitas, California 95035 USA
BD and the BD Logo are trademarks of Becton, Dickinson and Company or its affiliates. © 2023 BD. All rights reserved. 23-4889-05  



ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
CoDirector Técnico - Apoderado

BECTON DICKINSON ARGENTINA S.R.L.
Av. Del Libertador 110 2° Piso - C.P. B1638BEN
Vicente López – Buenos Aires - Argentina
Tel.: 0800-444-5523



BD® Stem Cell Control. Fabricante legal: Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences, 2350 Qume Drive, San José, CA 95131, Estados Unidos.

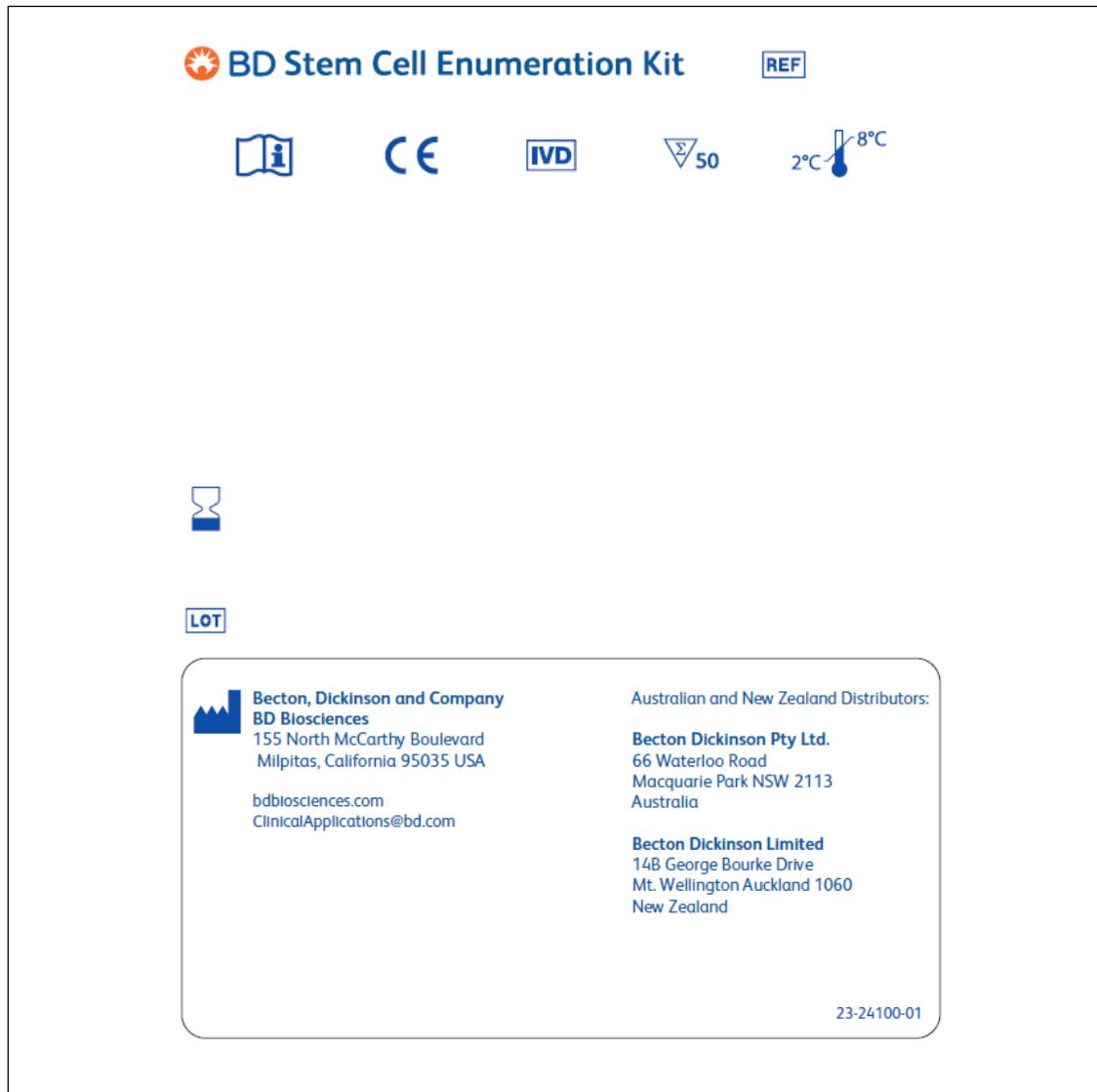
	REF 340991
BD™ Stem Cell Control CD34+ High Contrôle de cellule souche BD CD34+ haut	
Control de células madre BD CD34+ alto	
2mL	2°C
BD Biosciences: San Jose, California, USA	
	BENEX Limited, Shannon, Ireland 23-4889-02

	REF 340991
BD™ Stem Cell Control CD34+ Low Contrôle de cellule souche BD CD34+ bas	
Control de células madre BD CD34+ bajo	
2mL	2°C
BD Biosciences: San Jose, California, USA	
	BENEX Limited, Shannon, Ireland 23-4888-03

ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
CoDirector Técnico - Apoderado

Rótulos Externos

BD® Stem Cell Enumeration Kit. BD® Stem Cell Enumeration Kit. Fabricante legal:
Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences, 155 North McCarthy Boulevard,
Milpitas, CA 95035, Estados Unidos.



 **BD Stem Cell Enumeration Kit** REF

  IVD  



LOT

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

bdbiosciences.com
ClinicalApplications@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

23-24100-01



ERTEGAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
CoDirector Técnico - Apoderado

BECTON DICKINSON ARGENTINA S.R.L.
Av. Del Libertador 110 2° Piso - C.P. B1638BEN
Vicente López – Buenos Aires - Argentina
Tel.: 0800-444-5523



BD® Stem Cell Enumeration Kit. BD® Stem Cell Enumeration Kit. Fabricante legal:
Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences, 2350 Qume Drive, San José, CA
95131, Estados Unidos.

 **BD Stem Cell Enumeration Kit**

REF 664231












LOT

Placement of Secondary Bar Code

(17)YYMMDD (18) LLLLLL (30) xxx

Placement of Primary Bar code with Check Digit

(81) X 0038209642318



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

Australian and New Zealand Distributors:

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



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland
Tel +353.1.202.5222
Fax +353.1.202.5388

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

BD Biosciences
European Customer Support
Tel +32.2.400.98.95
Fax +32.2.401.70.94
help.biosciences@europe.bd.com

bdbiosciences.com
ClinicalApplications@bd.com

BD and the BD Logo are trademarks of Becton, Dickinson and Company or its affiliates.
© 2020 BD. All rights reserved.

23-22190-00
Made in USA



STEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
Co-Director Técnico - Apoderado

BECTON DICKINSON ARGENTINA S.R.L.
 Av. Del Libertador 110 2° Piso - C.P. B1638BEN
 Vicente López – Buenos Aires - Argentina
 Tel.: 0800-444-5523



BD® Stem Cell Control. Fabricante legal: Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences, 2350 Qume Drive, San José, CA 95131, Estados Unidos.

BD™ Stem Cell Control Kit

<p>BD Biosciences 2350 Qume Drive San Jose, CA 95131-1807 USA Tel (877) 232-8995 Fax (408) 954-2347 www.bdbiosciences.com</p>	<p>BD Biosciences Centralized European Office Erembodegem-Dorp 86 B-9320 Erembodegem-Aalst Belgium Tel (32) 53-720211 Fax (32) 53-720450</p>	<p>BD Biosciences Asia Pacific Division 30 Tuas Avenue, #2 Singapore 639461 Tel (65) 6861-0633 Fax (65) 6860-1590</p>
<p>BD Biosciences 1-2900 Argentia Road Mississauga, Ontario L5N 7X9 Canada Tel (888) 259-0187 (905) 542-8028 Fax (905) 542-9391</p>	<p>輸入元：日本ベクトン・ディッキンソン株式会社 東京都港区赤坂 8-5-26 電話：0120-8555-90</p>	<p>BD and BD logo are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2004 BD</p>

BD Biosciences: San Jose, California, USA.
 BENEX Limited, Shannon, Ireland

23-4895-03

Manufactured for BD Biosciences: San Jose, California, USA. Made in USA

BD® Stem Cell Control. Fabricante legal: Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences, 155 North McCarthy Boulevard, Milpitas, CA 95035, Estados Unidos.

Stem Cell Control

REF 340991

- 2 mL BD® Stem Cell Control CD34+ Low
- 2 mL BD® Stem Cell Control CD34+ High

YYYY-MM-DD

XXXXXX

Placement of Primary and Secondary Bar code with Check Digit

(01) 0 036290 3409914 (17)YYMMDD (10) LLLLLL

Manufactured for BD
 BD and the BD Logo are trademarks of Becton, Dickinson
 and Company or its affiliates. © 2023. All rights reserved.

Made in USA
 23-4887-07

ESTEBAN ZORZOLI
 Farmacéutico - M.N. 15643
 CoDirector Técnico - Apoderado

BD® Stem Cell Enumeration Assay Module



Sobre rótulo

Becton Dickinson Argentina SRL

Depósito: Av. Otto Krause 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

AUTORIZADO POR LA ANMAT N° PM 634-612

Instrucciones de uso



TECAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
CoDirector Técnico - Apoderado

BD Stem Cell Enumeration Kit

N.º de catálogo 664231, 50 análisis

23-7867(11)
2023-04
Español


2797



1. USO PREVISTO

El BD® Stem Cell Enumeration Kit está diseñado para la enumeración de poblaciones de células madre hematopoyéticas CD45+/CD34+ dobles positivas viables con el objetivo de determinar los recuentos absolutos (células/µl) de células CD34+ viables, así como el porcentaje de células madre hematopoyéticas CD45+/CD34+ viables (% CD34) para contribuir a la evaluación de calidad de los productos celulares utilizados en el proceso de trasplante de células madre hematopoyéticas, que incluye la preparación y el trasplante de los productos celulares con un citómetro de flujo BD equipado con:

- un láser azul de 488 nm y un láser rojo de 640 nm
- capacidad para detectar dispersión frontal (FSC) y dispersión lateral (SSC)
- fluorescencia de al menos cuatro colores
- software para obtener y analizar los datos

Cuando se utiliza con un citómetro de flujo BD, se pueden analizar los siguientes productos celulares (muestras):

- sangre periférica normal y movilizada
- productos de leucoféresis frescos y descongelados
- médula ósea fresca y descongelada
- sangre de cordón fresca y descongelada

El BD® Stem Cell Enumeration Kit está diseñado exclusivar *in vitro* por profesionales de laboratorio.


ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
CoDirector Técnico - Apoderado

2. RESUMEN DEL ANÁLISIS

El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en el tratamiento de afecciones sanguíneas, tumores malignos y anomalías genéticas está cada vez más extendido.¹⁻³ Las células progenitoras son muy poco comunes y se encuentran principalmente en la médula ósea y, con muy poca frecuencia, en la sangre periférica. Sin embargo, con la aparición de las terapias de movilización (G-CSF, GM-CSF y quimioterapia), la sangre periférica movilizada se ha convertido en una fuente preferida de células madre.¹⁻³

El antígeno CD34 está presente en las células precursoras hematopoyéticas inmaduras y en las células formadoras de colonias hematopoyéticas de la médula ósea y la sangre, incluidas las células progenitoras unipotentes y pluripotentes.⁴

Es necesario realizar una medición exacta del recuento de células CD34+ para los protocolos de cálculo de la dosis en el trasplante de células madre.² Un resultado incorrectamente alto podría provocar una infusión con una dosis inferior a la recomendada de células CD34+. También puede resultar útil realizar el cálculo cuantitativo de la población de células CD34+ para controlar la movilización.

Se pueden utilizar anticuerpos monoclonales conjugados con fluorocromo dirigidos contra la molécula CD34 para identificar las células CD34+ mediante citometría de flujo. La aplicación de citometría de flujo para la identificación y enumeración de células CD34+ es un método rápido, cuantitativo y reproducible para evaluar la población de células progenitoras.

Se han notificado importantes variaciones de un centro a otro en relación con los métodos de citometría de flujo para la determinación de porcentajes y cifras absolutas de células CD34+.⁵ Los protocolos de recuento absoluto de células mediante citometría de flujo de una sola plataforma han demostrado proporcionar una enumeración de CD34 más sólida gracias a que limitan las posibles fuentes de imprecisión.⁶ El BD[®] Stem Cell Enumeration Kit incluye BD Trucount[™] Tubes para determinar el recuento absoluto de células, eliminando así la variabilidad asociada a los recuentos absolutos derivados de la hematología.⁵ En este ensayo, la enumeración de las poblaciones celulares se realiza con un método automatizado o manual de selección de regiones y análisis. Para obtener más información, consulte la *Guía de aplicación de BD[®] Stem Cell Enumeration* del citómetro de flujo.

Este ensayo no es para la obtención automática de muestras ni para la preparación automática de muestras. Se pueden llevar a cabo análisis de datos mediante una plantilla predefinida y definición automática de áreas de selección (citómetros de flujo BD FACSLytic[™] y BD FACSCanto[™] II), que el usuario puede ajustar a mano si es necesario.

Principio de funcionamiento

El ensayo de un único tubo se realiza tiñendo la muestra con el reactivo en los BD Trucount[™] Tubes individuales para obtener recuentos absolutos.⁶ Cuando se añade una muestra al reactivo, los anticuerpos marcados con fluorocromo del reactivo se unen específicamente a la superficie de la célula. Además, el sedimento liofilizado del

BD Trucount™ Tube se disuelve, de modo que libera un número conocido de microesferas fluorescentes. El software del instrumento determina los recuentos absolutos (células/μl) de células del área de selección en la muestra comparando eventos celulares con eventos de microesferas.

Se añade colorante 7-AAD para evaluar la viabilidad de las células. Las células 7-AAD+ no son viables. Se añade cloruro de amonio para lisar los eritrocitos antes de adquirir la muestra en un citómetro de flujo.

Durante el análisis de la muestra, se calculan la concentración de células CD34+ y CD45+ viables y el porcentaje de células CD34+ viables en la población de células CD45+ viables.

3. REACTIVO

Composición del reactivo

El BD® Stem Cell Reagent consta de los anticuerpos conjugados enumerados a continuación:

Tabla 1 Composición de BD® Stem Cell Reagent

Anticuerpo	Fluorocromo	Clon	Isotipo	Concentración (μg/ml)
CD45	FITC	2D17, ⁸	IgG ₁ , kappa	12,5
CD34	PE	8G12 ⁹	IgG ₁ , kappa	10,0

CD45 (2D1) reconoce un antígeno leucocitario humano de 180–220 kilodaltons (kDa) que forma parte de la familia de los antígenos leucocitarios comunes (ALC).^{7,10} El antígeno CD45 está presente en todos los leucocitos humanos y se expresa débilmente en las células progenitoras hematopoyéticas.

CD34 (8G12) reconoce el antígeno de células progenitoras humanas (HPCA) de clase III. El antígeno CD34 está presente en las células precursoras hematopoyéticas inmaduras y en todas las células formadoras de colonias hematopoyéticas de la médula ósea y la sangre, incluidas las células progenitoras unipotentes y pluripotentes.¹⁰⁻¹⁴

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.
- No descontamine con lejía las muestras lisadas con cloruro de amonio.

- Para lograr un resultado exacto, es fundamental añadir un volumen preciso de muestra a los BD Trucount™ Tubes. Calibre las pipetas para que administren 100 µl. Use pipeteado inverso o una pipeta de desplazamiento positivo para añadir las muestras. 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 tubos en 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 BD® Stem Cell Reagent (CD45/CD34) a una temperatura de 2–8 °C. No utilice el producto después de la fecha de caducidad que figura en la etiqueta. No congele el reactivo ni lo exponga a la luz directa durante su almacenamiento o la incubación con células. Mantenga seco el vial del reactivo.
- Conserve el 7-AAD a 2–8 °C. Protéjalo de la luz.
- Almacene el cloruro de amonio 10X a 2–8 °C.
- Para cada uno de los tres reactivos líquidos, cierre el vial inmediatamente después de dispensar el reactivo y guárdelo de nuevo a 2–8 °C.
- Almacene los BD Trucount™ Tubes en su bolsa de papel de aluminio original a 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. Una bolsa que no se ha abierto es estable hasta la fecha de caducidad que se indica en el envase. Use los tubos en el plazo de 1 hora después de extraerlos de la bolsa de papel de aluminio. Use el resto de los tubos en el plazo de 1 mes después de la apertura de la bolsa. No utilice los tubos después de la fecha de caducidad.

4. INSTRUMENTOS

El BD® Stem Cell Enumeration Kit está diseñado para utilizarse en los siguientes sistemas BD. Consulte la documentación del usuario del reactivo o las guías de usuario del citómetro o el software correspondientes para obtener más detalles.



ESTEGHAN ZORZOLI
Farmacólogo - M.H. 15643
Coordinador Técnico - Apodado

Tabla 2 Sistemas BD recomendados

Citómetro de flujo	Configuración	Software de análisis
BD FACSLytic™	Aplicación BD FACSuite™ Clinical v1.4 o posterior, BD® CS&T Beads ^a y BD® FC Beads 7-Color Kit ^b	Aplicación BD FACSuite™ Clinical versión 1.4 o posterior
BD FACSCanto™ II	BD FACSCanto™ Clinical Software v2.4 o posterior y BD FACSTM 7-Color Setup Beads ^c	BD FACSCanto™ Clinical Software v2.4 o posterior
BD FACSCalibur™	Software BD FACSComp™ versiones 4.2 a 6.0	Software BD CellQuest™ versión 3.3 o software BD CellQuest™ Pro versiones 4.0.2, 5.2.1 o 6.0

- Para realizar el control de calidad diario del citómetro.
- Para calcular la compensación.
- 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.

5. RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Consideraciones generales:

- Siga las directrices (H42-A2) de almacenamiento y manipulación de muestras del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI; Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio).¹⁵ Los laboratorios deben validar cualquier condición de almacenamiento y manipulación de muestras distinta a las que se describen aquí.
- Lo ideal es conservar las muestras sin diluir a 2–8 °C.^{15,16}
- Tiña las muestras nuevas en un plazo de 24 horas desde la recogida.¹⁷ Tiña la sangre de cordón fresca en un plazo de 48 horas desde la recogida. Conserve las muestras teñidas sobre hielo* y realice la adquisición en el plazo de 1 hora después del lisado.
- Tiña las muestras congeladas inmediatamente después de la descongelación. Adquiera las muestras teñidas inmediatamente después de la lisis.
- Se han validado para utilizarse con este ensayo los siguientes anticoagulantes:
 - EDTA, ACD-A y heparina para sangre periférica (normal y movilizada), sangre de cordón (fresca y descongelada), médula ósea (fresca y descongelada) y productos de leucoféresis (frescos y descongelados).
 - CPD para sangre periférica (normal y movilizada) y sangre de cordón (fresca y descongelada).
 - Para los productos de leucoféresis puede utilizarse también una mezcla de ACD-A, heparina y EDTA con este ensayo.
- Es necesario un mínimo de 100 µl de muestra pura/diluida por análisis.



STEFANO ZORZOLI
Farmacultivo - M.H. 19643
Colección Técnica - Apoiato

* Hielo: hielo en una pequeña cantidad de agua. Permite un mejor contacto con el tubo de manera que el contenido se enfríe rápidamente.

- Realice un recuento de leucocitos en todas las muestras que se vayan a evaluar. Si el recuento de leucocitos es superior a 40×10^3 células/ μ l, diluya la muestra de acuerdo con los procedimientos de laboratorio estándar usando solución salina tamponada con fosfato (PBS) con albúmina de suero bovino (BSA) al 0,5 %.⁵ Es posible que las muestras lipémicas o con partículas tengan que diluirse aunque la concentración sea inferior a 40×10^3 células/ μ l. Utilice la técnica de pipeteado inverso para realizar las diluciones.
- Registre e introduzca el factor de dilución para el cálculo del resultado final de CD34 en el software:
 - Columna Dilution Factor (Factor de dilución) de la lista de trabajo de la aplicación BD FACSuite™ Clinical con el ensayo Stem Cell + 7-AAD o el BD FACSCanto™ Clinical Software con el módulo BD® Stem Cell Enumeration
 - Plantilla para el software BD CellQuest™ o BD CellQuest™ Pro

Para obtener instrucciones sobre la adquisición y el análisis, consulte la *Guía de aplicación de BD® Stem Cell Enumeration* del instrumento.

ADVERTENCIA Se consideran de riesgo biológico todas las muestras biológicas y todos los materiales que hayan entrado en contacto con ellas. Deben manipularse como si fueran potencialmente infecciosos^{18,19} y desecharse respetando las precauciones adecuadas de acuerdo con la normativa vigente. Nunca pipetee con la boca. Utilice ropa protectora, protección ocular y guantes adecuados.

Condiciones que causan interferencias

No use muestras previamente fijadas y almacenadas. Rechace las muestras hemolizadas, coaguladas o aglutinadas.

En la tabla se indican las sustancias que se han probado para saber si interfieren con el BD® Stem Cell Enumeration Kit. Las pruebas de interferencia se han realizado con productos de leucoféresis, médula ósea y sangre de cordón de conformidad con las directrices del CLSI.^{20,21} No se encontraron interferencias detectables en las siguientes concentraciones.

Tabla 3 Interferencias probadas

Analito	Concentración máxima
Albúmina	60 mg/ml (6 g/dl)
Bilirrubina	400 μ g/ml (40 mg/dl)
Ciclofosfamida	550 μ g/ml (55 mg/dl)
Hemoglobina	10 mg/ml (1 g/dl)
Doxorrubicina	1,932 μ g/ml
G-CSF	60 ng/ml
Intralipid	57 μ l/ml (1140 mg/dl)
Paclitaxel	10,8 μ g/ml



ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
CoDirector Técnico - Apoderado

6. PROCEDIMIENTO

Reactivos y materiales

Reactivos y materiales suministrados

El BD[®] Stem Cell Enumeration Kit es suficiente para 50 análisis cuando se usa según las instrucciones. El kit consta de los componentes enumerados a continuación:

- BD[®] Stem Cell Reagent

El reactivo contiene CD45 FITC y CD34 PE. Se suministra en PBS con albúmina de suero bovino (BSA) y azida sódica al 0,1 %.

- 7-AAD

7-AAD (45–65 µg/ml) es un colorante del ácido nucleico usado para evaluar la viabilidad de las células.

- Solución de lisado de cloruro de amonio 10X

La solución de cloruro de amonio es una solución sin fijación para la lisis de eritrocitos.

- BD Trucount[™] Tubes

Se incluyen dos bolsas, cada una con 25 tubos de un solo uso. Cada tubo contiene un sedimento liofilizado de microesferas fluorescentes. El recuento absoluto de la población celular de interés se puede determinar de forma inmediata añadiendo el reactivo y la muestra directamente al BD Trucount[™] Tube.

Reactivos y materiales necesarios que no se suministran

- Agua desionizada
- BD Vacutainer[®] Blood Collection Tubes o equivalentes
- Agitador vorticial
- Cronómetro
- Baño de agua helada
- Tubos de ensayo Falcon[®] desechables de poliestireno de 12 × 75 mm o equivalentes
- Micropipeta calibrada con puntas con capacidad para administrar 20 µl
- Micropipeta calibrada con puntas con capacidad para administrar 100 µl
- Dispensador a granel o pipeta para dispensar 2 ml de solución de lisado de cloruro de amonio 1X
- PBS 1X (Dulbecco's modified [Modificada de Dulbecco], pH 7,2 ± 0,2) con BSA al 0,5 %, ⁵ en caso de que sea necesario diluir la muestra
- BD[®] Stem Cell Control (n.º de catálogo 340991)

Consulte las Instrucciones de uso de *BD[®] Stem Cell Control* para obtener información sobre conservación, manipulación y de otro tipo.

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



SPITEBAN ZORZOLI
Farmaceutici - 19141 10043
Colombaro (Treviso) - Italia

Dilución de la solución de lisado de cloruro de amonio 10X

Cada día, prepare una cantidad suficiente de solución de lisado de cloruro de amonio 1X. Para ello, diluya 1 parte de solución de lisado de cloruro de amonio 10X con 9 partes de agua desionizada. Consérvela y utilícela a temperatura ambiente (20–25 °C). Deseche la solución de lisis de cloruro de amonio 1X sin utilizar.

Pipeteado inverso

Cuando se usa un BD Trucount™ Tube, es fundamental realizar un pipeteado exacto. Use técnicas de pipeteado inverso o una pipeta de desplazamiento positivo para pipetear la muestra en el lateral del tubo justo por encima del fiador.

Para el pipeteado inverso, presione el botón hasta el segundo tope. Inserte la pipeta en la muestra y suelte el botón. Al soltarlo, el exceso de muestra se extrae hacia la punta. Durante la dispensación, presione el botón hasta el primer tope para liberar un volumen preciso de muestra. De esta manera, el exceso de muestra queda en la punta.

Realización del control de calidad

Lleve a cabo controles de procesos bajos y altos con valores de recuentos absolutos de CD34+ analizados conocidos para confirmar la integridad de la tinción y del sistema. Recomendamos usar el BD® Stem Cell Control para esta finalidad, teñido sin añadir el reactivo 7-AAD. El BD® Stem Cell Control contiene células fijadas y, por tanto, se tiñe positivamente con 7-AAD. Otros controles de procesos deberá validarlos el laboratorio.

Tinción de las muestras

Utilice los volúmenes que figuran en la siguiente tabla para preparar las muestras para la tinción.

Tarea	Tipo de muestra	Tipo de tubo	Reactivo (µl)		BD® Stem Cell Control (µl)		Muestra (µl)
			SCE ^a	7-AAD	CD34+, alto	CD34+, bajo	
Calibración con 7-AAD	Optimización ^b	Poliestireno	20	20	100 de cualquiera de ellos		
	Teñida con 7-AAD ^c	Poliestireno	–	20	100 de cualquiera de ellos		–
	Sin teñir con 7-AAD ^c	Poliestireno	–	–	100 de cualquiera de ellos		–
Tinción de controles de procesos	Control alto	BD Trucount™	20	–	100	–	–
	Control bajo	BD Trucount™	20	–	–	100	–
Tinción de muestra	Muestra	BD Trucount™	20	20	–	–	100

a. SCE = Stem Cell Enumeration.

b. Únicamente para adquisición en un citómetro de flujo BD FACSCanto™ II.

c. Únicamente para adquisición en un citómetro de flujo BD FACSLytic™.

Realice la adquisición de las muestras en el plazo de 1 hora después del lisado. En el caso de las muestras teñidas tras la descongelación, proceda con la adquisición de muestras inmediatamente después de lisarlas. Las muestras con un alto grado de manipulación o procesamiento pueden ser más susceptibles de contener un mayor número de células muertas después de la preparación.¹⁶

Para obtener información sobre la configuración, la adquisición y el análisis de datos, consulte la guía de aplicación para su citómetro de flujo:

- *BD® Stem Cell Enumeration Application Guide for BD FACSLyric™ Flow Cytometers* (Guía de aplicación de BD® Stem Cell Enumeration para citómetros de flujo BD FACSLyric™)
- *BD® Stem Cell Enumeration Application Guide for BD FACSCanto™ II Flow Cytometers* (Guía de aplicación de BD® Stem Cell Enumeration para citómetros de flujo BD FACSCanto™)
- *BD® Stem Cell Enumeration Application Guide for BD FACSCalibur™ Flow Cytometers* (Guía de aplicación de BD® Stem Cell Enumeration para citómetros de flujo BD FACSCalibur™)

Ejecución del ensayo con citómetros de flujo BD FACSLyric™

Antes de empezar:

1. Compruebe que BD® Stem Cell Reagent, 7-AAD, BD® CS&T Beads y BD® FC Beads no estén caducados.
2. Añada los lotes de reactivo y microsferas a la biblioteca si es necesario.
3. Compruebe que el control de calidad de la caracterización y la configuración de referencia de lisado/lavado no hayan caducado.

Para obtener más información, consulte el *BD FACSLyric™ Clinical Reference System* (Sistema de referencia clínica de BD FACSLyric™) y la *Guía de aplicación de BD® Stem Cell Enumeration para citómetros de flujo BD FACSLyric™*.

4. Realice el control de calidad de la caracterización y actualice la configuración de referencia de lisado/lavado si es necesario.

Para realizar el ensayo:

1. Lleve a cabo cada día el control de calidad del funcionamiento con BD® CS&T Beads.
2. Añada 7-AAD a la configuración de referencia, según sea necesario.

Esto debe hacerse antes de ejecutar el ensayo por primera vez, en cualquier momento que 7-AAD no está presente en la configuración de referencia, cada vez que un nuevo lote de BD® CS&T Beads se utiliza sin realizar una transferencia de lote de microsferas o cuando lo recomiende la cuenta BD Service (Servicio de BD).

Para obtener más información, consulte la *BD® Stem Cell Enumeration Application Guide for BD FACSLyric™ Flow Cytometers* (Guía de aplicación de BD® Stem Cell Enumeration para citómetros de flujo BD FACSLyric™).

3. Realice la calibración del ensayo y de la configuración de los tubos para el ensayo BD® Stem Cell.

Recomendamos que marque las casillas Run Setup (Ejecutar la calibración) y Generate Reports (Generar informes).

4. Cree una lista de trabajo.
 - Cree una tarea y seleccione Stem Cell Control para cada control de proceso que esté llevando a cabo.
 - Cree una tarea y seleccione Stem Cell + 7-AAD para cada muestra que vaya a procesar.
5. Ejecute las tareas Stem Cell Control de lista de trabajo.

Agite a conciencia cada uno de los tubos en el agitador vorticial, a baja velocidad, inmediatamente antes de realizar la adquisición.

6. Revise el informe de laboratorio de BD® Stem Cell Control y confirme que los valores se encuentren dentro de los intervalos que figuran en la hoja CD34+ Assay Values and Expected Ranges (Valores de análisis y rangos esperados de células CD34+), incluida con los controles de procesos.
7. Ejecute las tareas Stem Cell + 7-AAD de lista de trabajo.

Agite a conciencia el tubo con cada muestra en el agitador vorticial, a baja velocidad, inmediatamente antes de realizar la adquisición.

Para obtener más información, consulte la *BD® Stem Cell Enumeration Application Guide for BD FACSLyric™ Flow Cytometers* (Guía de aplicación de BD® Stem Cell Enumeration para citómetros de flujo BD FACSLyric™).

Ejecución del panel con citómetros de flujo BD FACSCanto™ II

1. Lleve a cabo la calibración usando BD FACST™ 7-Color Setup Beads.

Para obtener más información, consulte la *BD® Stem Cell Enumeration Application Guide for BD FACSCanto™ II Flow Cytometers* (Guía de aplicación de BD® Stem Cell Enumeration para citómetros de flujo BD FACSCanto™).

2. Seleccione el panel BD Stem Cell.
3. 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 citómetro de flujo.²²

4. Cuando el software lo solicite, cargue el control teñido con 7-AAD.



ESTERDAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.M. 11643
Instituto Tecnológico - Apóstrofo

Una vez realizada la adquisición de la muestra, el instrumento estará listo para adquirir los controles de procesos y las muestras teñidos.

5. Añada una entrada del panel BD Stem Cell para cada control de proceso a la lista de trabajo.

NOTA Deberá aparecer la palabra «Control» en el nombre de la muestra.

6. Añada una entrada del panel BD Stem Cell + 7-AAD para cada muestra a la lista de trabajo.
7. Siga las indicaciones del software para adquirir los controles de procesos y las muestras teñidos.

Compruebe que los valores de control de proceso se encuentren dentro de los intervalos que figuran en la hoja CD34⁺ Assay Values and Expected Ranges (Valores de análisis y rangos esperados de células CD34⁺).

Ejecución del ensayo con citómetros de flujo BD FACSCalibur™

1. Configure el citómetro de flujo con el software BD FACSComp™ con parámetros de lisado/no lavado (LNW) de 3-colores o 4 colores.

Para obtener más información, consulte la *BD® Stem Cell Enumeration Application Guide for BD FACSCalibur™ Flow Cytometers* (Guía de aplicación de BD® Stem Cell Enumeration para citómetros de flujo BD FACSCalibur™).

2. Agite a conciencia cada uno de los tubos en el agitador vorticial, a baja velocidad, inmediatamente antes de realizar la adquisición.
3. Lleve a cabo la adquisición de los controles en un citómetro de flujo BD FACSCalibur™ inmediatamente después de la tinción.
4. Después de la adquisición, añada 20 µl del reactivo 7-AAD a uno de los tubos. Tape el tubo y agite suavemente en el agitador vorticial.
5. Incube durante 10 minutos en un lugar oscuro a temperatura ambiente (20–25 °C).
6. Coloque inmediatamente el tubo en hielo en un lugar oscuro hasta que esté preparado para realizar la adquisición.
7. Lleve a cabo la adquisición del control teñido con reactivo 7-AAD en un plazo de 1 hora después del lisado.

Esto garantiza que las muestras teñidas con 7-AAD se compensen correctamente.

8. Lleve a cabo la adquisición de las muestras teñidas en el plazo de 1 hora después del lisado.

Análisis de los datos

Revise el informe de laboratorio del ensayo. Para obtener más información, consulte la documentación del usuario del software o del instrumento correspondiente, o la *Guía de aplicación de BD® Stem Cell Enumeration* del instrumento.

NOTA Es posible que aparezca una franja de plaquetas en el gráfico de puntos CD34-PE frente a SSC cuando se analizan muestras recogidas en anticoagulante heparina. Si esto ocurre, consulte la *Guía de aplicación de BD® Stem Cell Enumeration* del instrumento para obtener información sobre la solución de problemas.

7. RESULTADOS

Consulte la *BD® Stem Cell Enumeration Application Guide* (Guía de aplicación de BD® Stem Cell Enumeration) de su instrumento para ver ejemplos de informes de laboratorio.

Valores calculados

Las muestras se tiñen en BD Trucount™ Tubes y el recuento absoluto de células positivas en la muestra puede determinarse comparando eventos celulares con 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 los BD Trucount™ Tubes y varía de un lote a otro.

Algunos de los resultados indicados en el informe de laboratorio son valores calculados. Consulte la *BD® Stem Cell Enumeration Application Guide* (Guía de aplicación de BD® Stem Cell Enumeration) de su instrumento para obtener más información.

8. LIMITACIONES

- Debido a los requisitos de temperatura de este ensayo, el sistema BD FACSDuet™ no puede utilizarse para preparar las muestras y el BD FACST™ Universal Loader y el BD FACST™ Loader no pueden utilizarse para adquirir muestras.
- Los laboratorios deben establecer sus propios requisitos de viabilidad de CD34+ para cada tipo de muestra.

9. VALORES ESPERADOS

La validación del intervalo de referencia con el BD® Stem Cell Enumeration Kit se realizó en los laboratorios de BD Biosciences de San José (CA, Estados Unidos).

Intervalos de referencia

Los intervalos de referencia del BD® Stem Cell Enumeration Kit se validaron con muestras de sangre periférica normal. En un estudio se incluyeron sujetos adultos hematológicamente normales con edades comprendidas entre los 18 y los 77 años para determinar los intervalos de referencia para el citómetro de flujo BD FACSLytic™. Es necesario que los laboratorios establezcan intervalos de referencia con el BD® Stem Cell

Enumeration Kit para sus poblaciones de donantes con el fin de reflejar las posibles fuentes de variabilidad. Es necesario conocer la edad, el sexo, las características clínicas y la raza y etnia de los pacientes para determinar un intervalo de referencia.²³ Los intervalos de referencia que se ofrecen son de carácter meramente informativo. Consulte la tabla 4.

Tabla 4 Intervalos de referencia representativos para adultos

Medidas comunicadas	N	Media	DE	Intervalo de referencia del 95 %	
				Inferior (límites de confianza del 90 %)	Superior (límites de confianza del 90 %)
Recuentos absolutos de CD34 viables (células/ μ l)	130	2,35	1,98	0 (0, 1)	7 (6, 13)
% células CD34	130	0,04	0,03	0,01 (0, 0,01)	0,1 (0,09, 0,18)

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) con el BD® Stem Cell Enumeration Kit. Se evaluó la estabilidad de las muestras de productos de leucoféresis, de sangre de cordón y de médula ósea frescas 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.

Todas las muestras se mantuvieron a 2–8 °C antes de la tinción. En función de los resultados de este estudio, se recomienda teñir las muestras nuevas en las 24 horas siguientes a la recogida. La sangre de cordón fresca puede teñirse en el plazo de las 48 horas posteriores a la recogida. Se recomienda mantener las muestras teñidas en hielo en un lugar oscuro y analizarlas en el plazo de 1 hora desde el lisado.

Sensibilidad analítica (capacidad de detección)

Se llevaron a cabo estudios para evaluar la sensibilidad analítica del BD® Stem Cell Enumeration Kit en el citómetro de flujo BD FACSLyric™ en el extremo inferior del intervalo de medición para células CD34⁺ viables (≤ 5 células/ μ l). Se evaluó la exactitud y repetibilidad en el extremo inferior del intervalo.

La exactitud se evaluó con el BD® Stem Cell Enumeration Kit para teñir 36 muestras de sangre periférica normal. Las muestras con ≤ 5 células/ μ l se teñieron en dos réplicas con uno de los tres lotes de BD® Stem Cell Reagent en BD Trucount™ Tubes. Se adquirió una réplica en uno de los tres citómetros de flujo BD FACSLyric™ y la otra se adquirió en un citómetro de flujo BD FACSCanto™ II.

A continuación se resume la diferencia absoluta media (sesgo medio), DE y el intervalo de confianza (IC) del 95 %.

Tabla 5 Análisis de sesgo del citómetro de flujo BD FACSLytic™ frente al BD FACSCanto™ II

Diferencia absoluta media (sesgo medio) (células/ μ l)	DE de sesgo	IC inferior del 95 %	IC superior del 95 %
0,15	0,63	-0,06	0,37

Se evaluó la repetibilidad de muestras con recuento bajo, con ≤ 5 células/ μ l, mediante el BD® Stem Cell Enumeration Kit para teñir 19 muestras de sangre periférica normal. Las muestras se tiñeron en cinco réplicas con tres lotes del BD® Stem Cell Reagent en BD Trucount™ Tubes. Para cada muestra se adquirieron 15 réplicas en tres citómetros de flujo BD FACSLytic™. Se analizaron un total de 285 muestras.

Se presentan la desviación estándar (DE) y el nivel de confianza superior del 97,5 % (97,5 % UCL) de la DE para la repetibilidad y la precisión intracentro.

Tabla 6 Repetibilidad de los recuentos absolutos (células/ μ l) de células CD34+ viables en muestras con recuento bajo

Precisión	DE	97,5 % UCL de DE
Repetibilidad	0,6	0,66
Intracentro	0,61	0,67

Límite de blanco

En un estudio se evaluó la capacidad de detección del límite de blanco (LOB) del BD® Stem Cell Enumeration Kit con el citómetro de flujo BD FACSLytic™ para los recuentos absolutos de células CD34+ viables. En un estudio de 10 días con tres citómetros de flujo BD FACSLytic™ y tres operadores se utilizó plasma sin células extraído de sangre periférica normal (un donante por día). Para cada donante se tiñeron seis réplicas con cada uno de los tres lotes del BD® Stem Cell Enumeration Kit. El LOB es de 0 células/ μ l.

Citómetros de flujo BD FACSLytic™

Comparación de métodos (citómetros de flujo BD FACSLytic™)

Se llevó a cabo un estudio de comparación de métodos entre el sistema BD FACSLytic™ en investigación y el sistema BD FACSCanto™ II probado con el BD® Stem Cell Enumeration Kit y el módulo de ensayo BD® Stem Cell Enumeration en cinco centros clínicos. El sistema BD FACSLytic™ consta de un citómetro de flujo BD FACSLytic™ de 10 colores (configuración 4-3-3) o de 12 colores (configuración 4-3-5) con la aplicación BD FACSuite™ Clinical, BD® CS&T Beads y BD® FC Beads 7-Color Kit. El sistema BD FACSCanto™ II consta del citómetro de flujo BD FACSCanto™ II con

BD FACSCanto™ Clinical Software y BD® 7-Color Setup Beads. Las muestras de sangre periférica movilizada y normal, de productos de leucoféresis frescos y descongelados, de sangre de cordón y de médula ósea se recogieron de donantes de cinco laboratorios clínicos.

A continuación se resumen las estadísticas de regresión para los recuentos absolutos de células CD34+ viables y la diferencia (sesgo) para el porcentaje de CD34+ en células CD45+ viables entre los valores de los sistemas en investigación y probado. Consulte las tablas 7 y 8, respectivamente. Los resultados se agruparon para producir una diferencia media del porcentaje de CD34+ para cada contenedor, junto con el intervalo de confianza (IC) del 95 %. En el informe de laboratorio se muestran resultados para otros parámetros con carácter meramente informativo.

Tabla 7 Estadísticas de regresión para los recuentos absolutos de células CD34+ viables del BD® Stem Cell Enumeration Kit en el sistema BD FACSLytic™ en comparación con el sistema BD FACSCanto™ II

Variable	N	R ²	Pendiente (IC del 95 %)	Intersección (IC del 95 %)
Recuentos absolutos de CD34+ viables (células/ul)	501	0,983	1,06 (1,04, 1,08)	-0,02 (-0,14, 0,10)

Tabla 8 Estadísticas de diferencia para los porcentajes de células CD34+ viables en células CD45+ viables del BD® Stem Cell Enumeration Kit en el sistema BD FACSLytic™ en comparación con el sistema BD FACSCanto™ II

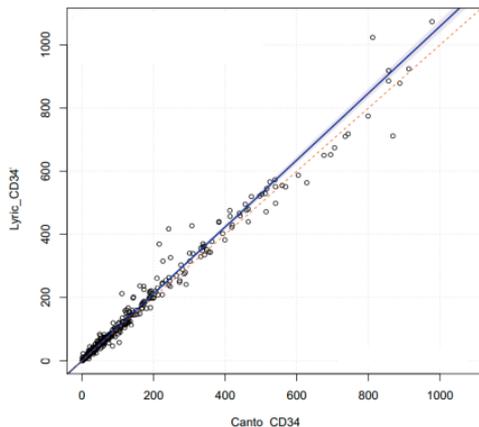
Variable	Contenedor	N	Media del sistema probado	Diferencia absoluta media (IC del 95 %)	Diferencia relativa media (IC del 95 %)
% de CD34+ viables en CD45+ viables	≤0,5	247	0,19	0,02 (0,01, 0,03)	N/A
	>0,5	254	2,35	N/A	6,36% (4,57%, 8,14%)

Se muestra el gráfico de regresión para los recuentos absolutos de células CD34+ viables en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II frente al BD FACSLytic™. Consulte la figura 1. La línea continua es la línea ajustada. La línea discontinua es la línea donde los resultados del sistema probado son iguales que los resultados del sistema en investigación.



ESTECAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
Co-Director Técnico - Apoderado

Figura 1 Gráfico de regresión de los recuentos absolutos de células CD34+ viables (células/ μ l) en BD FACSCanto™ II frente a los recuentos absolutos de células CD34+ viables en los citómetros de flujo BD FACSLyric™ de todos los tipos de muestras



Las estadísticas de regresión del ensayo en el citómetro de flujo BD FACSLyric™ en comparación con el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II se resumen por tipo de muestra. Consulte la tabla 9.

Tabla 9 Estadísticas de regresión por tipo de muestra

Tipo de muestra	Variable	N	R ²	Pendiente (IC del 95 %)	Intersección (IC del 95 %)
Sangre periférica	CD34+ viables (células/ μ l)	111 (normales: 48, movilizadas: 63)	0,99	1,06 (1,02, 1,10)	0,00 (-0,15, 0,16)
	% de CD34+ viables en CD45+ viables		0,99	1,04 (0,90, 1,18)	0,00 (-0,03, 0,03)
Productos de leucoféresis	CD34+ viables (células/ μ l)	137 (nuevas: 68, descongeladas: 69)	0,98	1,03 (0,97, 1,10)	0,56 (-2,56, 3,67)
	% de CD34+ viables en CD45+ viables		0,99	1,09 (1,03, 1,14)	-0,02 (-0,08, 0,04)
Sangre de cordón	CD34+ viables (células/ μ l)	132 (nuevas: 61, descongeladas: 71)	0,98	1,08 (1,04, 1,11)	-0,20 (-0,56, 0,15)
	% de CD34+ viables en CD45+ viables		0,98	1,07 (0,98, 1,15)	0,00 (-0,04, 0,05)

Tabla 9 Estadísticas de regresión por tipo de muestra

Tipo de muestra	Variable	N	R ²	Pendiente (IC del 95 %)	Intersección (IC del 95 %)
Médula ósea	CD34+ viables (células/μl)	121 (nuevas: 60, descongeladas: 61)	0,96	1,07 (1,03, 1,11)	-0,08 (-0,44, 0,28)
	% de CD34+ viables en CD45+ viables		0,98	1,15 (1,01, 1,29)	-0,17 (-0,42, 0,08)

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

Se llevó a cabo un estudio de precisión de 21 días de duración en un solo centro para evaluar la repetibilidad y precisión intracentro con material de control.²⁴ Se realizaron estimaciones de la precisión con tres citómetros de flujo BD FACSLyric™ y tres operadores, adquiriendo cuatro concentraciones de analito, CD-Chex Plus®, CD-Chex CD34® de nivel 1, CD-Chex CD34® de nivel 2 y CD-Chex CD34® de nivel 3, teñidas por duplicado con tres lotes de BD® Stem Cell Enumeration Kit. Se realizaron dos análisis diferentes durante cada uno de los 21 días de prueba.

Se calculó la precisión para las siguientes subpoblaciones:

- recuentos absolutos de células CD34+ totales (células/μl)
- células madre CD34+ totales como porcentaje de células CD45+ totales (%)
- recuentos absolutos de células CD45+ totales (células/μl)

En las siguientes tablas se indican la desviación estándar (DE) o el coeficiente de variación (% CV) de la repetibilidad y la precisión intracentro.

Tabla 10 Repetibilidad y precisión intracentro para los recuentos absolutos de células CD34+ totales (contenedores de valores muy bajos y bajos)

Tipo de muestra	Precisión	Media (células/μl)	DE
CD-Chex Plus (muy bajo)	Repetibilidad	3,53	0,56
	Intracentro		0,62
CD-Chex CD34 de nivel 1 (bajo)	Repetibilidad	13,23	1,55
	Intracentro		1,59

Tabla 11 Repetibilidad y precisión intracentro para los recuentos absolutos de células CD34+ totales (contenedores de valores normales y altos)

Tipo de muestra	Precisión	Media (células/μl)	% CV
CD-Chex CD34 de nivel 2 (normal)	Repetibilidad	36,47	8,5
	Intracentro		8,93

Tabla 11 Repetibilidad y precisión intracentro para los recuentos absolutos de células CD34+ totales (contenedores de valores normales y altos)

Tipo de muestra	Precisión	Media (células/ μ l)	% CV
CD-Chex CD34 de nivel 3 (alto)	Repetibilidad	120	5,59
	Intracentro		6,35

Tabla 12 Repetibilidad y precisión intracentro para las células madre CD34+ totales como porcentaje de células CD45+ totales (contenedores de valores muy bajos y bajos)

Tipo de muestra	Precisión	Media (%)	DE
CD-Chex Plus (muy bajo)	Repetibilidad	0,05	0,01
	Intracentro		0,01
CD-Chex CD34 de nivel 1 (bajo)	Repetibilidad	0,21	0,02
	Intracentro		0,02

Tabla 13 Repetibilidad y precisión intracentro para las células madre CD34+ totales como porcentaje de células CD45+ totales (contenedores de valores normales y altos)

Tipo de muestra	Precisión	Media (%)	% CV
CD-Chex CD34 de nivel 2 (normal)	Repetibilidad	0,56	6,63
	Intracentro		6,94
CD-Chex CD34 de nivel 3 (alto)	Repetibilidad	1,8	3,03
	Intracentro		3,12

Tabla 14 Repetibilidad y precisión intracentro para los recuentos absolutos de células CD45+ totales

Tipo de muestra	Precisión	Media (células/ μ l)	% CV
CD-Chex Plus (muy bajo)	Repetibilidad	6764,71	6,14
	Intracentro		8,11
CD-Chex CD34 de nivel 1 (bajo)	Repetibilidad	6403,86	4,67
	Intracentro		5,35
CD-Chex CD34 de nivel 2 (normal)	Repetibilidad	6465,39	5,13
	Intracentro		6,09

Tabla 14 Repetibilidad y precisión intracentro para los recuentos absolutos de células CD45+ totales

Tipo de muestra	Precisión	Media (células/ μ l)	% CV
CD-Chex CD34 de nivel 3 (alto)	Repetibilidad	6597,50	4,68
	Intracentro		5,48

Precisión (repetibilidad), muestras clínicas (citómetros de flujo BD FACSLyric™)

Se llevó a cabo un estudio de precisión en un solo centro para evaluar la repetibilidad del sistema y la precisión intracentro con muestras clínicas. Se evaluaron los siguientes tipos de muestras:

- sangre periférica normal y movilizada
- sangre de cordón fresca y descongelada
- productos de leucoféresis frescos y descongelados
- médula ósea fresca y descongelada

Para cada tipo de muestra se tiñeron cuatro réplicas por instrumento mediante tres lotes de BD® Stem Cell Enumeration Kit y se realizó la adquisición. En el estudio se emplearon tres citómetros de flujo BD FACSLyric™ y varios operadores.

En las siguientes tablas se presentan la desviación estándar (DE) o el coeficiente de variación (% CV) para la repetibilidad y la precisión intracentro de los recuentos absolutos de células CD34+ y células CD45+, el porcentaje de células CD34+ viables (como porcentaje de células CD45+ viables) y el porcentaje de células CD34+ totales (como porcentaje de células CD45+ totales).

Tabla 15 Repetibilidad y precisión intracentro de los recuentos absolutos de células CD34+ (contenedor de valores bajos)

Subpoblación	Contenedor (células CD34+/ μ l)	N	Media (células/ μ l)	Repetibilidad (DE)	Intracentro (DE)
CD34+ viables	≥ 1 a ≤ 10	216	3,3	0,59	0,58
Células CD34+ totales		192	3,70	0,73	0,75

Tabla 16 Repetibilidad y precisión intracentro de los recuentos absolutos de células CD34+ (contenedor de valores altos)

Subpoblación	Contenedor (células CD34+/ μ l)	N	Media (células/ μ l)	Repetibilidad (% CV)	Intracentro (% CV)
CD34+ viables	>10	480	119,97	15,60	15,96
Células CD34+ totales		504	123,36	17,60	18,06

Tabla 17 Repetibilidad y precisión intracentro de los recuentos absolutos de CD45⁺

Subpoblación	N	Media (células/μl)	Repetibilidad (% CV)	Intracentro (% CV)
CD45 ⁺ viables	696	15 501,5	6,6	6,6
Células CD45 ⁺ totales	696	16 695,1	6,2	6,3

Tabla 18 Repetibilidad y precisión intracentro del porcentaje de CD34⁺ (como porcentaje de CD45⁺)

Subpoblación	N	Media (%)	Repetibilidad		Intracentro	
			DE	% CV	DE	% CV
% de CD34 ⁺ viables	696	1,03	0,11	10,8	0,11	10,8
% de CD34 ⁺ totales	696	0,83	0,08	9,4	0,08	9,5

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

Se llevó a cabo un estudio en tres centros para evaluar la reproducibilidad del sistema. Se facilitó un solo lote de cada material de control, CD-Chex CD34[®] (nivel 1, nivel 2 y nivel 3) y CD-Chex Plus[®] y tres lotes de BD[®] Stem Cell Enumeration Kit a cada centro. Para cada tipo de material de control se tiñeron tres réplicas mediante el BD[®] Stem Cell Reagent. Las pruebas se realizaron dos veces al día durante 10 días no consecutivos, con un operador y un citómetro de flujo BD FACSLyric™ en cada centro.

En las siguientes tablas se presentan la desviación estándar (DE) o el coeficiente de variación (% CV) de la reproducibilidad de:

- recuentos absolutos de células CD34⁺ totales (células/μl)
- células CD34⁺ totales como porcentaje de células CD45⁺ totales
- recuentos absolutos de células CD45⁺ totales (células/μl)

Tabla 19 Reproducibilidad de los recuentos absolutos de células CD34⁺ totales (células/μl) (contenedores de valores muy bajos y bajos)

Tipo de muestra	Media (células/μl)	Repetibilidad (DE)	Reproducibilidad (DE)
CD-Chex Plus (muy bajo)	2,3	0,44	0,47
CD-Chex CD34 de nivel 1 (bajo)	12,2	1,35	1,38



ESTEBAN ZORZOLI
Farmacólogo - M.º. 19843
Codirector Técnico - Apoderado

Tabla 20 Reproducibilidad de los recuentos absolutos de células CD34+ totales (células/ μ l) (contenedores de valores normales y altos)

Tipo de muestra	Media (células/ μ l)	Repetibilidad (% CV)	Reproducibilidad (% CV)
CD-Chex CD34 de nivel 2 (normal)	34,7	6,40	6,69
CD-Chex CD34 de nivel 3 (alto)	118,3	4,88	5,37

Tabla 21 Reproducibilidad del porcentaje (%) de células CD34+ totales de células CD45+ totales (contenedores de valores muy bajos y bajos)

Tipo de muestra	Media (%)	Repetibilidad (DE)	Reproducibilidad (DE)
CD-Chex Plus (muy bajo)	0,04	0,01	0,01
CD-Chex CD34 de nivel 1 (bajo)	0,18	0,02	0,02

Tabla 22 Reproducibilidad del porcentaje (%) de células CD34+ totales de células CD45+ totales (contenedores de valores normales y altos)

Tipo de muestra	Media (%)	Repetibilidad (% CV)	Reproducibilidad (% CV)
CD-Chex CD34 de nivel 2 (normal)	0,51	5,63	5,8
CD-Chex CD34 de nivel 3 (alto)	1,72	3,77	3,87

Tabla 23 Reproducibilidad de los recuentos absolutos de células CD45+ totales (células/ μ l)

Tipo de muestra	Media (células/ μ l)	Repetibilidad (% CV)	Reproducibilidad (% CV)
CD-Chex Plus (muy bajo)	6699,3	3,20	3,31
CD-Chex CD34 de nivel 1 (bajo)	6778,6	3,88	4,48
CD-Chex CD34 de nivel 2 (normal)	6752,5	3,23	3,35
CD-Chex CD34 de nivel 3 (alto)	6894,8	2,99	3,37

Linealidad (citómetros de flujo BD FACSLyric™)

Se diluyeron células CD34⁺ purificadas descongeladas en sangre periférica normal en todo el intervalo de informe del ensayo correspondientes a los recuentos absolutos de células CD34⁺ viables. Se prepararon nueve diluciones para cubrir el extremo inferior del intervalo (0–100 células/μl) y nueve diluciones para cubrir el intervalo total (0–1000 células/μl). Tres operadores tiñeron cada muestra diluida con los tres lotes del BD® Stem Cell Enumeration Kit (un lote por operador) y las adquirieron en uno de los tres citómetros de flujo BD FACSLyric™. Se observó que los recuentos absolutos de células CD34⁺ viables eran lineales dentro del intervalo completo de 1–1000 células/μl.

Intervalo de medición analítico (AMR) (citómetros de flujo BD FACSLyric™)

Se emplearon los datos de los estudios de linealidad y sensibilidad analítica y del estudio de comparación de métodos para establecer el AMR de los recuentos absolutos de células CD34⁺ viables utilizando el BD® Stem Cell Enumeration Kit. El extremo inferior del AMR se definió por el estudio de linealidad y se confirmó mediante los estudios de sensibilidad analítica. El extremo superior del AMR estuvo respaldado por los datos del estudio de comparación de métodos y el estudio de linealidad. El AMR de los recuentos absolutos de células CD34⁺ viables es de 1–1000 células/μl.

Citómetros de flujo BD FACSCanto™ II

Comparación de métodos (citómetros de flujo BD FACSCanto™ II)

Los recuentos absolutos de CD34⁺ se enumeraron y se determinaron los porcentajes de células CD34⁺ con el BD® Stem Cell Enumeration Kit en los citómetros de flujo BD FACSCanto™ II y se compararon con los resultados del reactivo probado[†] en un citómetro de flujo BD FACSCanto™ II.

Las muestras de sangre periférica movilizada y normal, de productos de leucoféresis, de sangre de cordón y de médula ósea se recogieron de donantes de cuatro laboratorios clínicos.

En la tabla 24 se resumen los resultados del estudio de exactitud del BD® Stem Cell Enumeration Kit en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II. Para cada muestra evaluable, se calcularon las diferencias (sesgo) entre los valores de los sistemas en investigación y probado correspondientes al número absoluto de células CD34 viables y el porcentaje de células CD34 viables en CD45. Los resultados se agruparon para producir sesgos medios de CD34 y porcentajes de CD34 para cada contenedor, junto con el intervalo de confianza (IC) del 95 %.



ESTEBAN ZORZOLI
Ingeniero - M.M. 15043
Coordinador Técnico - Apoderado

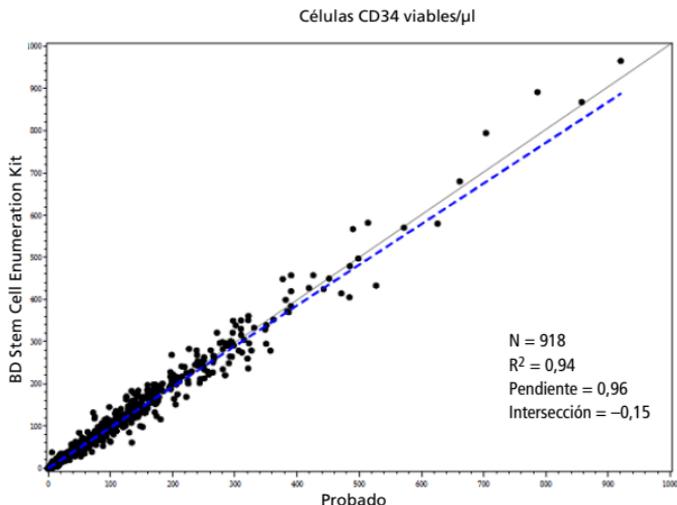
[†] Reactivos Beckman Coulter Stem-Kit™

Tabla 24 Resultados del estudio de exactitud del BD® Stem Cell Enumeration Kit en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II en comparación con el método probado

Variables	Conte nedor	N	Diferencia absoluta		Diferencia relativa con el método probado	
			Sesgo absoluto medio	IC del 95 %	Sesgo relativo medio	IC del 95 %
CD34 viables	Bajo	167	-0,1	(-0,5, 0,3)	N/A	N/A
	Medio	496	-0,7	(-1,4, -0,04)	-1,6	(-3,1, -0,2)
	Alto	255	-1,4	(-4,3, 1,6)	-1,0	(-2,4, 0,4)
% células CD34 en CD45	Bajo	512	-0,004	(-0,01, 0,0002)	-2,2	(-4,4, -0,1)
	Alto	406	0,08	(0,04, 0,1)	2,1	(-0,1, 4,3)

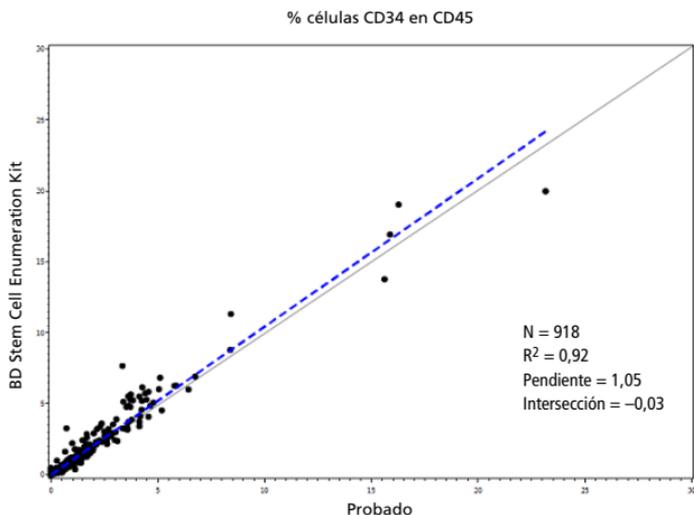
Los gráficos de regresión y las estadísticas del recuento de células CD34 viables y del porcentaje de células CD34 en CD45 en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II se muestran en las figuras 2 y 3. En cada gráfico, la línea continua es la línea ajustada. La línea discontinua de cada gráfico es la línea de identidad donde los resultados probados son iguales que los resultados del BD® Stem Cell Enumeration Kit.

Figura 2 Gráfico de regresión de todos los tipos de muestras combinados (citómetro de flujo BD FACSCanto™ II)




ERTEDJAN ZORZOLI
 Especialista - M.N. 15643
 Odontólogo - Apodotado

Figura 3 Gráfico de regresión de todos los tipos de muestras combinados (citómetro de flujoBD FACSCanto™ II)



En la tabla 25 se resumen las estadísticas de regresión del ensayo para cada tipo de muestra en los citómetros de flujo BD FACSCanto™ II.

Tabla 25 Estadísticas de regresión en BD FACSCanto™ II por tipo de muestra

Tipo de muestra	Variable	N	R ²	Pendiente	Intersección
Sangre periférica	CD34 viables	188 (normales: 57, movilizadas: 131)	0,94	0,96 (0,93, 0,99)	-0,07 (-0,21, 0,07)
	% células CD34 en CD45	188 (normales: 57, movilizadas: 131)	0,98	0,99 (0,93, 1,06)	0,00 (-0,01, 0,00)
Productos de leucoféresis	CD34 viables	341 (nuevas: 232, descongeladas: 109)	0,97	0,96 (0,94, 0,98)	-0,02 (-0,2, 0,17)
	% células CD34 en CD45	341 (nuevas: 232, descongeladas: 109)	0,95	0,96 (0,94, 0,99)	-0,02 (-0,03, 0,00)
Sangre de cordón	CD34 viables	241 (nuevas: 124, descongeladas: 117)	0,88	0,97 (0,93, 1,02)	-0,52 (-0,92, -0,11)
	% células CD34 en CD45	241 (nuevas: 124, descongeladas: 117)	0,87	1,02 (0,94, 1,09)	-0,02 (-0,04, 0,01)
Médula ósea	CD34 viables	148 (nuevas: 75, descongeladas: 73)	0,95	1,00 (0,96, 1,03)	-0,02 (-0,13, 0,10)
	% células CD34 en CD45	148 (nuevas: 75, descongeladas: 73)	0,89	1,21 (1,13, 1,28)	-0,05 (-0,10, 0,00)

Precisión (citómetros de flujo BD FACSCanto™ II)

Los cálculos de la precisión del ensayo se determinaron en BD Biosciences utilizando los controles de procesos BD® SCE Control High (con un intervalo de >10 a ≤ 100 células/ μ l) y BD® SCE Control Custom Low (con un intervalo de ≤ 10 células/ μ l) teñidos por duplicado con el BD® Stem Cell Enumeration Kit y analizados en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II. Se realizaron dos análisis diferentes durante cada uno de los 21 días. En las tablas 26–29 se indican las medias, las desviaciones estándar (DE) y los coeficientes de variación (CV) de la repetibilidad y la precisión intracentro.

Tabla 26 Repetibilidad de los recuentos absolutos de las células CD34⁺ (células/ μ l)

Control	Media (células/ μ l)	DE	% CV
Control High	35,3	1,83	5,2
Control Custom Low	8,8	0,90	10,3

Tabla 27 Repetibilidad del % de células CD34⁺

Control	Media (%)	DE	% CV
Control High	0,58	0,027	4,7
Control Custom Low	0,15	0,014	9,6

Tabla 28 Precisión intracentro de los recuentos absolutos de células CD34⁺ (células/ μ l)

Control	Media (células/ μ l)	DE	% CV
Control High	35,3	1,83	5,2
Control Custom Low	8,8	0,95	10,8

Tabla 29 Precisión intracentro del % de células CD34⁺

Control	Media (%)	DE	% CV
Control High	0,58	0,027	4,7
Control Custom Low	0,15	0,015	10,2



ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
Co-Director Técnico - Apoderado

Linealidad (citómetros de flujo BD FACSCanto™ II)

La linealidad se evaluó en BD Biosciences. Se analizaron por triplicado las mediciones de las concentraciones múltiples de células CD34⁺ purificadas congeladas inoculadas en sangre normal en todo el intervalo de informe del ensayo correspondientes a los recuentos absolutos de CD34⁺ en los instrumentos BD FACSCanto™ II y BD FACSCalibur™. Intervalo inferior = 0–100 células/μl e intervalo total = 0–1000 células/μl. Se observó que los resultados eran lineales en el intervalo de recuentos absolutos de CD34⁺.

Citómetros de flujo BD FACSCalibur™

Concordancia (citómetros de flujo BD FACSCalibur™)

Los recuentos absolutos de CD34⁺ se enumeraron y los porcentajes de células CD34⁺ se determinaron con el BD® Stem Cell Enumeration Kit en los citómetros de flujo BD FACSCanto™ II y BD FACSCalibur™, y se compararon con los resultados del reactivo probado[‡] en un citómetro de flujo BD FACSCanto™ II.

Las muestras de sangre periférica movilizada y normal, de productos de leucoféresis, de sangre de cordón y de médula ósea se recogieron de donantes de cuatro laboratorios clínicos.

En la tabla 30 se resumen los resultados del estudio de exactitud del BD® Stem Cell Enumeration Kit en el citómetro de flujo BD FACSCalibur™. Para cada muestra evaluable, se calcularon las diferencias (sesgo) entre los valores de los sistemas en investigación y probado correspondientes al número absoluto de células CD34 viables y el porcentaje de células CD34 viables en CD45. Los resultados se agruparon para producir sesgos medios de CD34 y porcentajes de CD34 para cada contenedor, junto con el intervalo de confianza (IC) del 95 %.

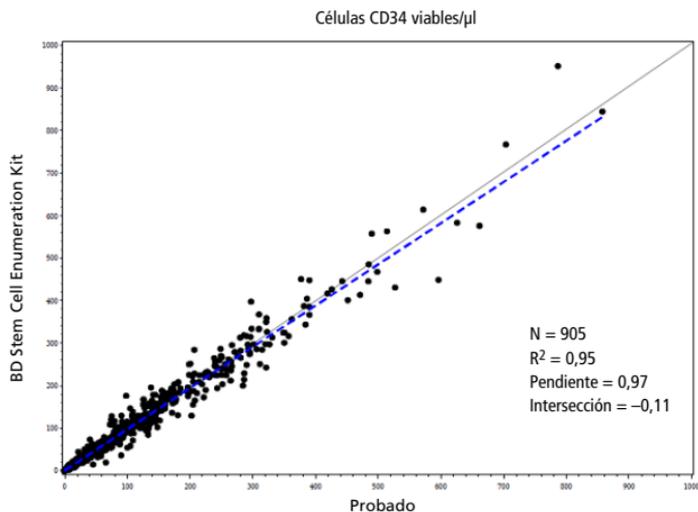
Tabla 30 Resultados del estudio de exactitud del BD® Stem Cell Enumeration Kit en el citómetro de flujo BD FACSCalibur™ en comparación con el método probado

Variables	Contenedor	N	Diferencia absoluta		Diferencia relativa con el método probado	
			Sesgo absoluto medio	IC del 95 %	Sesgo relativo medio	IC del 95 %
CD34 viables	Bajo	156	-0,2	(-0,4, -0,05)	N/A	N/A
	Medio	492	-0,5	(-1,3, 0,2)	-0,9	(-2,3, 0,5)
	Alto	257	-3,6	(-6,8, -0,3)	-1,7	(-3,1, -0,2)
% células CD34 en CD45	Bajo	487	-0,002	(-0,01, 0,001)	-0,8	(-3,0, 1,3)
	Alto	418	0,2	(0,09, 0,2)	3,2	(0,9, 5,5)

‡ Reactivos Beckman Coulter Stem-Kit™

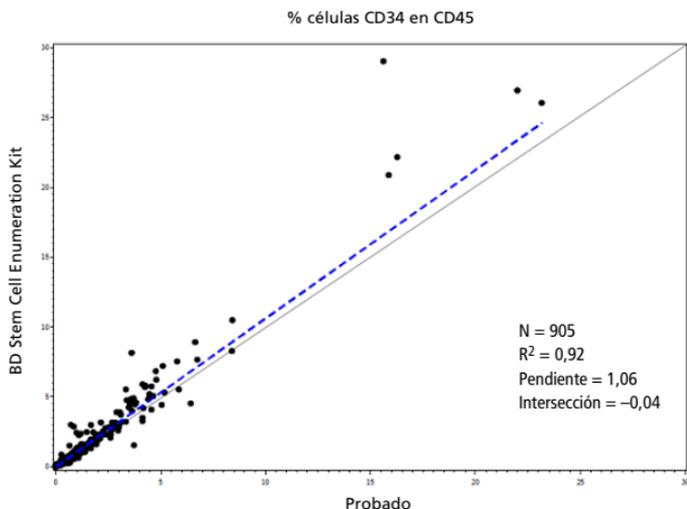
Los gráficos de regresión y las estadísticas del recuento de CD34+ y del porcentaje de células CD34+ en CD45+ en el citómetro de flujo BD FACSCalibur™ se muestran en las figuras 4 y 5. En cada gráfico, la línea continua es la línea ajustada. La línea discontinua de cada gráfico es la línea de identidad donde los resultados probados son iguales que los resultados del BD® Stem Cell Enumeration Kit.

Figura 4 Gráfico de regresión de todos los tipos de muestras combinados (citómetro de flujo BD FACSCalibur™)




ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
Co-Director Técnico - Apoderado

Figura 5 Gráfico de regresión de todos los tipos de muestras combinados (citómetro de flujo BD FACSCalibur™)



En la tabla 31 se resumen las estadísticas de regresión del ensayo para cada tipo de muestra en los citómetros de flujo BD FACSCalibur™.

Tabla 31 Estadísticas de regresión en BD FACSCalibur™ por tipo de muestra

Tipo de muestra	Variable	N	R ²	Pendiente	Intersección
Sangre periférica	CD34 viables	167 (normales: 52, movilizadas: 115)	0,94	1,00 (0,96, 1,03)	-0,13 (-0,32, 0,05)
	% células CD34 en CD45	167 (normales: 52, movilizadas: 115)	0,97	0,97 (0,9, 1,05)	0,00 (-0,01, 0,01)
Productos de leucoféresis	CD34 viables	342 (nuevas: 232, descongeladas: 110)	0,97	0,98 (0,96, 0,99)	0,04 (-0,06, 0,15)
	% células CD34 en CD45	342 (nuevas: 232, descongeladas: 110)	0,96	0,98 (0,96, 1,00)	-0,02 (-0,03, 0,00)
Sangre de cordón	CD34 viables	245 (nuevas: 122, descongeladas: 123)	0,94	0,96 (0,93, 0,99)	-0,28 (-0,52, -0,04)
	% células CD34 en CD45	245 (nuevas: 122, descongeladas: 123)	0,87	1,02 (0,92, 1,11)	-0,02 (-0,05, 0,02)
Médula ósea	CD34 viables	151 (nuevas: 73, descongeladas: 78)	0,94	0,96 (0,92, 1,00)	-0,03 (-0,09, 0,03)
	% células CD34 en CD45	151 (nuevas: 73, descongeladas: 78)	0,88	1,23 (1,15, 1,31)	-0,08 (-0,12, -0,03)

Precisión (citómetros de flujo BD FACSCalibur™)

Los cálculos de la precisión del ensayo se determinaron en BD Biosciences utilizando los controles de procesos BD® SCE Control High (con un intervalo de >10 a ≤100 células/μl) y BD® SCE Control Custom Low (con un intervalo de ≤10 células/μl) teñidos por duplicado con el BD® Stem Cell Enumeration Kit y analizados en el citómetro de flujo BD FACSCalibur™. Se realizaron dos análisis diferentes durante cada uno de los 21 días. En las tablas 32–35 se indican las medias, las desviaciones estándar (DE) y los coeficientes de variación (CV) de la repetibilidad y la precisión intracentro.

Tabla 32 Repetibilidad de los recuentos absolutos de las células CD34⁺ (células/μl)

Control	Media (células/μl)	DE	% CV
Control High	35,5	1,69	4,8
Control Custom Low	8,8	0,75	8,6

Tabla 33 Repetibilidad del % de células CD34⁺

Control	Media (%)	DE	% CV
Control High	0,58	0,027	4,7
Control Custom Low	0,14	0,012	8,2

Tabla 34 Precisión intracentro de los recuentos absolutos de células CD34⁺ (células/μl)

Control	Media (células/μl)	DE	% CV
Control High	35,5	2,02	5,7
Control Custom Low	8,8	0,82	9,3

Tabla 35 Precisión intracentro del % de células CD34⁺

Control	Media (%)	DE	% CV
Control High	0,58	0,030	5,1
Control Custom Low	0,14	0,014	9,4



ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
Co-Director Técnico - Apoderado

Linealidad (citómetros de flujo BD FACSCalibur™)

La linealidad se evaluó en BD Biosciences. Se analizaron por triplicado las mediciones de las concentraciones múltiples de células CD34⁺ purificadas congeladas inoculadas en sangre normal en todo el intervalo de informe del ensayo correspondientes a los recuentos absolutos de CD34⁺ en los instrumentos BD FACSCanto™ II y BD FACSCalibur™. Intervalo inferior = 0–100 células/μl e intervalo total = 0–1000 células/μl. Se observó que los resultados eran lineales en el intervalo de recuentos absolutos de CD34⁺.

11. SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Problema	Posible causa	Solución
La diferenciación entre residuos y linfocitos es escasa.	Interacción celular con otras células y plaquetas.	Preparar y teñir otra muestra.
	La muestra se ha manipulado con poco cuidado 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.
La tinción es débil o está decayendo.	La concentración celular era excesiva en la etapa de tinción.	Comprobar y ajustar la concentración de células o el volumen de la muestra. Repetir la tinción.
	No se ha empleado reactivo suficiente.	Repetir la tinción con una cantidad mayor de anticuerpo.
	Las células no se han analizado en el plazo de 1 hora desde el lisado.	Repetir la tinción con una muestra nueva. Analizarla rápidamente.
Se han observado pocas células o ninguna.	Concentración celular demasiado baja.	Diluir las muestras con un factor de dilución menor. Repetir la tinción y el análisis.
	El citómetro no funciona correctamente.	Seguir las instrucciones para la solución de problemas del instrumento.



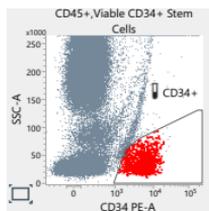
ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.M. 19643
Coordinador Técnico - Apolterado

Diferencias en el ensayo entre la aplicación BD FACSuite™ Clinical y BD FACSCanto™ Clinical Software:

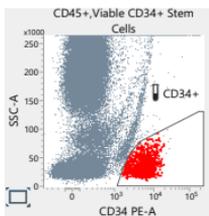
Característica	Aplicación BD FACSuite™ Clinical	BD FACSCanto™ Clinical Software
Hora de detención de adquisición	10 minutos	15 minutos
Capacidad para cambiar la hora de detención de adquisición	No	Sí
Área de selección de CD34+ (se encuentra en el gráfico de puntos de CD34 PE-A frente a SSC-A de la población de CD45+, células madre CD34+ viables)	Sí	No

La nueva área de selección de CD34+ se utiliza para ayudar a excluir la franja de plaquetas y otros residuos.

Antes de la definición manual de áreas de selección:



Después de volver a definir manualmente las áreas de selección para excluir la franja de plaquetas:



REFERENCIAS

- Shpall EJ, Jones RB, Bearman SI, et al. Transplantation of enriched CD34-positive autologous marrow into breast cancer patients following high-dose chemotherapy: influence of CD34-positive peripheral-blood progenitors and growth factors on engraftment. *J Clin Oncol.* 1994;12:28-36.
- Langenmayer I, Weaver C, Buckner CD, et al. Engraftment of patients with lymphoid malignancies transplanted with autologous bone marrow, peripheral blood stem cells or both. *Bone Marrow Transplant.* 1995;15:241-246.
- Zander AR, Lyding J, Bielack S. Transplantation with blood stem cells. *Blood Cells.* 1991;17:301-309.

- 4 Greaves MF, Tittley I, Colman SM, et al. CD34 cluster workshop report. In: Schlossman SF, Bousmell L, Gilks W, et al, eds. *Leucocyte Typing V: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1995;1:840-846.
- 5 Sutherland DR, Nayyar R, Acton E, Giftakis A, Dean S, Mosiman VL. Comparison of two single-platform ISHAGE-based CD34 enumeration protocols on BD FACSCalibur and FACSCanto flow cytometers. *Cytotherapy*. 2009;11:595-605.
- 6 Brockelbank AM, Sparrow RL. Enumeration of CD34⁺ cells in cord blood: a variation on a single-platform flow cytometric method based on the ISHAGE gating strategy. *Cytometry*. 2001;46:254-261.
- 7 Cobbold SP, Hale G, Waldmann H. Non-lineage, LFA-1 family, and leucocyte common antigens: new and previously defined clusters. In: McMichael AJ, ed. *Leucocyte Typing III: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1987:788-803.
- 8 Appendix C. Summary of antibody names, code numbers, and donor laboratories. In: McMichael AJ, Beverley PC, Cobbold S, et al, eds. *Leucocyte Typing III: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1987:988-993.
- 9 Greaves MF, Tittley I, Colman SM, et al. CD34 cluster workshop report. In: Schlossman SF, Bousmell L, Gilks W, et al, eds. *Leucocyte Typing V: White Cell Differentiation Antigens*. Vol 1. New York, NY: Oxford University Press; 1995:840-846.
- 10 Schwinger 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.
- 11 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.
- 12 Civin CI, Strauss LC, Brovall C, Fackler MJ, Schwartz JF, Shaper JH. Antigenic analysis of hematopoiesis. III. A hematopoietic progenitor cell surface antigen defined by a monoclonal antibody raised against KG-1a cells. *J Immunol*. 1984;133:157-165.
- 13 Siena S, Bregni M, Brando B, et al. Flow cytometry for clinical estimation of circulating hematopoietic progenitors for autologous transplantation in cancer patients. *Blood*. 1991;77:400-409.
- 14 Civin CI, Trischmann TM, Fackler MJ, et al. Report on the CD34 cluster workshop. In: Knapp W, Dörken B, Gilks WR, et al, eds. *Leucocyte Typing IV: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1989:818-825.
- 15 *Enumeration of Immunologically Defined Cell Populations by Flow Cytometry: Approved Guideline—Second Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007. CLSI document H42-A2.
- 16 Antonenas V, Garvin F, Webb M, Sartor M, Bradstock KF, Gottlieb D. Fresh PBSC harvests, but not BM, show temperature-related loss of CD34 viability during storage and transport. *Cytotherapy*. 2006;8:158-165.
- 17 Keeney M, Brown W, Gratama J, Papa S, Lanza F, Sutherland DR. Single platform enumeration of viable CD34^{pos} cells. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2003;17:247-253.
- 18 *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline — Fourth Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014. CLSI document M29-A4.
- 19 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.
- 20 *Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline—Third Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018. CLSI document EP07-A3.
- 21 *Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry—First Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018. CLSI document EP37.
- 22 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.
- 23 *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.
- 24 *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.

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 LA PRESENTE, BD RENUNCIA A CUALQUIER OTRA GARANTÍA, EXPRESA O IMPLÍCITA, INCLUIDAS LAS GARANTÍAS DE COMERCIABILIDAD 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 MATERIALES NI DE NINGÚN DAÑO ACCIDENTAL O DERIVADO, INCLUIDOS DAÑOS PERSONALES O PÉRDIDAS ECONÓMICAS, CAUSADOS POR EL PRODUCTO.

PATENTES Y MARCAS COMERCIALES

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

BD, el logotipo de BD, BD CellQuest, BD FACSCComp, BD FACSDuet, BD FACSLytic, BD FACSuite, BD Trucount, FACS, FACSCalibur, 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. © 2023 BD. Todos los derechos reservados.

HISTORIAL

Revisión	Fecha	Cambios realizados
23-7867(10)	2022-06	Se ha actualizado para cumplir los requisitos del Reglamento (UE) 2017/746.
23-7867(11)	2023-04	Se ha actualizado la dirección legal del fabricante. Se han añadido las direcciones de los importadores de la UE y Suiza. Se ha actualizado el glosario de símbolos.



ERTECAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
CoDirector Técnico - Apoderado

GLOSARIO DE SÍMBOLOS

GLOSARIO DE SÍMBOLOS

Remítase al etiquetado del producto para consultar los símbolos aplicables.

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 procesamiento asépticas
	Esterilizado utilizando óxido de etileno
	Esterilizado utilizando radiación
	Esterilizado utilizando vapor de agua o calor seco
	No volver a esterilizar
	No esterilizar
	No utilizar si el envase está dañado y consúltense las instrucciones de uso
	Via fluido estéril
	Via fluido estéril (óxido de etileno)
	Via fluido 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 instrucciones de uso o consúltense las instrucciones de uso 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
	Apróximo
	Número de paciente
	Este lado hacia arriba
	No aplanar

Símbolo	Significado
	Sistema de barrera estéril única
	Contenido o presencia de ftalato: combinación de di(2-etilhexil) ftalato (DEHP) y butilbencilftalato (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
	«n.» de envase» / «total de envases»
	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
	Importador
	Colocar la etiqueta del paciente únicamente en el área enmarcada
	Compatible con la resonancia magnética (RM)
	Compatibilidad condicional con la resonancia magnética (RM)
	Incompatible con la resonancia magnética (RM)
	Para uso con
	Este producto contiene goma natural seca
	Solo para exportación
	Instrumentos

Nota: La disposición del texto en los símbolos viene determinada por el diseño de la etiqueta.

1006715(08) 2023-03

CRISTIAN ZORZOLI
 Firmado digitalmente por Cristian Zorzoli el 13 de 18643
 C=Colombia, E=cris@medtronic.com

INFORMACIÓN DE CONTACTO



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

EC REP

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



Becton Dickinson Distribution Center NV
Laagstraat 57
9140 Temse, Belgium

CH REP

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



Becton Dickinson AG
Binningerstrasse 94
4123 Allschwil
Switzerland

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

Australian and New Zealand Distributors:

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

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

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

ClinicalApplications@bd.com



eifu.bd.com


STEGAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
Co-Director Técnico - Apoderado

BD Stem Cell Control

2 ml por nivel — N.º de catálogo: 340991

23-4896(10)
2023-07
Español

R_x Only  IVD
2797

1. USO PREVISTO

El BD[®] Stem Cell Control está diseñado como sistema de control del proceso en dos niveles con valores cuantitativos asignados para su uso en el inmunofenotipaje mediante un citómetro de flujo BD. Se trata de un sistema de control para la tinción de anticuerpos, lisis de eritrocitos, calibración de instrumentos y análisis de datos si se utiliza junto con el BD[®] Stem Cell Enumeration Kit.

2. RESUMEN DEL ANÁLISIS

El inmunofenotipaje mediante citometría de flujo utiliza reactivos de anticuerpos monoclonales conjugados con fluorocromos, dispersión de la luz y microesferas fluorescentes para identificar y determinar el recuento porcentual y absoluto de poblaciones de linfocitos relevantes en una muestra. El BD[®] Stem Cell Control es un material de control de laboratorio interno diseñado para que los profesionales de laboratorio supervisen y verifiquen el proceso de inmunofenotipaje. El BD[®] Stem Cell Control es un sistema de control estable con valores asignados que pueden usarse para controlar el proceso de inmunofenotipificación de células CD34⁺.

Principio de funcionamiento

El BD[®] Stem Cell Control se utiliza de manera similar que la sangre periférica.^{1,2,3,4} El reactivo se añade al material de control del proceso en un BD Trucount™ Tube y se incuba, lo que permite que cada anticuerpo monoclonal se una a su antígeno específico en la superficie celular. No se añade al tubo el colorante de viabilidad, 7-AAD. Después de la incubación, se añade solución de cloruro de amonio para lisis para lisar los eritrocitos de la muestra. Las células se adquieren y analizan en un citómetro de flujo BD utilizando el software adecuado para determinar el recuento porcentual y absoluto de células CD34⁺. Los valores medios de control obtenidos por el laboratorio deben estar dentro de los rangos especificados en la hoja BD[®] Stem Cell Control CD34⁺ Assay Values and Expected Ranges (Valores de análisis y rangos esperados de CD34+) proporcionada con el BD[®] Stem Cell Control.

3. REACTIVO

Composición del reactivo

El BD[®] Stem Cell Control contiene células estables CD34⁺, leucocitos, eritrocitos y sangre periférica movilizadas de humanos en un medio de conservación líquido. Se ha analizado la inmunorreactividad a CD34 de los controles.

Precauciones

- La solución sobrenadante deberá ser de color entre amarillento y rosa claro. El calor o la congelación pueden provocar la decoloración del líquido sobrenadante por una hemólisis excesiva.
- Visite regdocs.bd.com/regdocs/sdsSearch para descargar la ficha de datos de seguridad.

ADVERTENCIA Trate todos los hemoderivados como potencialmente infecciosos.^{5,6} Nunca pipetee con la boca. Utilice ropa protectora, protección ocular y guantes adecuados. Todas las muestras de origen humano utilizadas en la preparación de este producto se han analizado y los resultados fueron negativos para el antígeno del virus de la hepatitis B (AgHB), Ag VIH-1 y anticuerpos del virus de la hepatitis C (VHC) y del VIH-1/VIH-2. Sin embargo, ningún método de prueba conocido puede ofrecer garantías de que los productos derivados de sangre humana no transmitan agentes infecciosos.

ADVERTENCIA Cuando manipule o deseche los viales, tome las precauciones para materiales de riesgo biológico de acuerdo con la normativa nacional y local.

Conservación y manipulación

- Conserve los viales bien cerrados en posición vertical a una temperatura de entre 2–8 °C cuando no los utilice.
- Los viales sin abrir son estables hasta la fecha de caducidad que se indica en cada vial y en la hoja CD34⁺ Assay Values and Expected Ranges (Valores de análisis y rangos esperados de CD34⁺). No los utilice después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Los viales abiertos son estables durante 12 ciclos térmicos (usos) si se manejan correctamente. Un ciclo térmico consiste en realizar todos los pasos detallados en la sección 4 «Procedimiento» una vez.
- Evite ciclos innecesarios de calentamiento y enfriamiento. Proteja este producto de la congelación, de temperaturas superiores a 30 °C y de la exposición prolongada (más de 30 minutos) a temperatura ambiente (18–26 °C).
- Siga exactamente los pasos descritos en la sección 4 «Procedimiento».

4. PROCEDIMIENTO

Reactivos y materiales

Reactivos y materiales suministrados

- BD[®] Stem Cell Control CD34⁺ alto
- BD[®] Stem Cell Control CD34⁺ bajo

Cada vial contiene 2,0 ml.

- CD34⁺ Assay Values and Expected Ranges sheet (Hoja de Valores de análisis y rangos esperados de CD34⁺)

Reactivos y materiales necesarios que no se suministran

- BD[®] Stem Cell Enumeration Kit (N.º de catálogo 664231 [CE-IVD] o 344563 [US-IVD])

Configuración del instrumento

1. Asegúrese de que el citómetro de flujo pase el control de calidad diario.
2. Configure el citómetro de flujo para el ensayo que va a llevar a cabo.

Resuspensión del control

1. Saque el vial del frigorífico (2–8 °C) y déjelo a temperatura ambiente (18–26 °C) durante 15 minutos.
2. Sujete el vial en posición vertical entre las palmas de las manos y gírelo hacia delante y hacia atrás 10 veces.
3. Invierta suavemente el vial 10 veces.

PRECAUCIÓN No sacuda el vial ni utilice un mezclador mecánico.

4. Repita los pasos 2–3 hasta que el sedimento celular del fondo del vial esté totalmente resuspendido (podrían ser necesarios 3 o 4 ciclos).
5. Invierta el vial 5 veces inmediatamente antes de retirar el material de control.
6. Retire la cantidad de material de control necesaria.

Consulte las instrucciones de uso de *BD[®] Stem Cell Enumeration Kit*.

7. Devuelva el BD[®] Stem Cell Control al frigorífico inmediatamente después de retirar el material de control.
8. Procese el BD[®] Stem Cell Control igual que una muestra sin añadir 7-AAD al tubo.

Consulte las instrucciones de uso de *BD[®] Stem Cell Enumeration Kit*.

9. Compruebe que los resultados se encuentren dentro de los rangos que se indican en la hoja CD34⁺ Assay Values and Expected Ranges (Valores de análisis y rangos esperados de CD34+).

NOTA Cada laboratorio debe establecer sus propios medios y rangos esperados.⁷

5. RESULTADOS

Los valores que se muestran en la hoja CD34⁺ Assay Values and Expected Ranges (Valores de análisis y rangos esperados de CD34+) derivan de los resultados de análisis de réplicas con analizadores hematológicos, BD FACSCalibur™ y citómetros de flujo BD FACSCanto™ II con BD Procount™ Progenitor Cell Enumeration Kit y BD[®] Stem Cell Enumeration Kit de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. Los eventos CD34⁺ se indican como porcentaje del recuento de leucocitos CD45⁺ totales. Para calcular los recuentos absolutos (células/μl), se multiplica el porcentaje de cada fenotipo por los recuentos totales de linfocitos obtenidos mediante un análisis independiente con una combinación de tecnologías. Los intervalos de los valores indicados se basan en las variaciones previstas debidas a las diferencias en los reactivos (anticuerpos y soluciones de lisis de eritrocitos), los instrumentos, la técnica de tinción y el análisis de datos.

La elección de la estrategia de designación de áreas de selección para el recuento de CD34 influirá en los resultados. Es fundamental que se revisen los resultados para asegurar que los eventos clasificados como células CD34⁺ concuerden con las propiedades fenotípicas de las células progenitoras hematopoyéticas humanas.^{8,9,10} Consulte las directrices y sugerencias para el análisis inmunofenotípico de los linfocitos y células CD34⁺.^{8,9,10}

6. LIMITACIONES

- El BD[®] Stem Cell Control no se ha diseñado como sistema de control para analizadores hematológicos de sangre entera.
- El BD[®] Stem Cell Control no se ha diseñado para actuar como indicador de viabilidad celular. No es aconsejable utilizar fluorocromos de tinción vital, como el yoduro de propidio (PI) y el 7-amino-actinomicina-D (7-AAD), con este producto.
- La mezcla incompleta del vial antes del uso invalida tanto la muestra recogida como el resto del material del vial.

7. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Precisión (repetibilidad)

Un estudio de precisión de un solo centro evaluó la repetibilidad del sistema durante un período de 20 días. Tres lotes de BD[®] Stem Cell Control se tiñeron con un lote de BD[®] Stem Cell Enumeration Kit sin 7-AAD, por duplicado. Un operador tiñó el material de control y se adquirieron dos series por día en un citómetro de flujo BD FACSLytic™.

Se informa de la desviación estándar (DE) y media o el coeficiente de variación (% CV) de la repetibilidad y la precisión intracentro. Todos los valores se encontraban dentro de los rangos informados en la hoja CD34⁺ Assay Values and Expected Ranges (Valores de análisis y rangos esperados de CD34+).

Tabla 1 Repetibilidad y precisión intracentro de recuentos absolutos y porcentuales (de CD45⁺) de CD34⁺ (bajo)

Lote	Parámetro	Media	DE	
			Repetibilidad	Precisión intracentro
Lote 1 (bajo)	CD34 ⁺ (células/μl)	10,39	1,04	1,05
	CD34 ⁺ (% de CD45 ⁺)	0,165	0,015	0,015
Lote 2 (bajo)	CD34 ⁺ (células/μl)	9,66	1,167	1,190
	CD34 ⁺ (% de CD45 ⁺)	0,158	0,015	0,016
Lote 3 (bajo)	CD34 ⁺ (células/μl)	10,63	1,000	1,072
	CD34 ⁺ (% de CD45 ⁺)	0,171	0,014	0,015

Tabla 2 Repetibilidad y precisión intracentro de recuentos absolutos y porcentuales (de CD45⁺) de CD34⁺ (alto)

Lote	Parámetro	Media	% CV	
			Repetibilidad	Precisión intracentro
Lote 1 (alto)	CD34 ⁺ (células/μl)	33,60	7,8	8,7
	CD34 ⁺ (% de CD45 ⁺)	0,531	5,2	5,6
Lote 2 (alto)	CD34 ⁺ (células/μl)	31,79	7,9	8,1
	CD34 ⁺ (% de CD45 ⁺)	0,518	5,2	5,3
Lote 3 (alto)	CD34 ⁺ (células/μl)	38,34	6,7	6,8
	CD34 ⁺ (% de CD45 ⁺)	0,612	3,4	3,8

Precisión (reproducibilidad)

Se llevó a cabo un estudio en tres centros para evaluar la reproducibilidad del BD[®] Stem Cell Control. Se facilitó un lote de BD[®] Stem Cell Control a cada uno de los centros. Se tiñeron cinco réplicas del material de control en cada centro mediante el mismo lote de BD[®] Stem Cell Enumeration Kit sin 7-ADD en seis días de prueba consecutivos. Las pruebas en cada centro las llevó a cabo un operador y en un citómetro de flujo BD FACSLyric™.

Se informaron la media, la desviación estándar (DE) y el porcentaje del coeficiente de variación (% CV) de la reproducibilidad.

Tabla 3 Reproducibilidad de recuentos absolutos y porcentuales (de CD45⁺) de CD34⁺

Lote	Parámetro	Media	Reproducibilidad	
			DE	% CV
Bajo	CD34 ⁺ (células/μl)	10,41	1,316	12,60
	CD34 ⁺ (% de CD45 ⁺)	0,172	0,018	10,20

Lote	Parámetro	Media	Reproducibilidad	
			DE	% CV
Alto	CD34 ⁺ (células/ μ l)	38,43	2,628	6,80
	CD34 ⁺ (% de CD45 ⁺)	0,622	0,036	5,70

8. SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Problema	Posible causa	Solución
Los valores están fuera de los encontrados en la hoja CD34 ⁺ Assay Values and Expected Ranges (Valores de análisis y rangos esperados de CD34+).	El procedimiento de tinción no funcionó.	Preparar y teñir otra muestra de control. Adquirirla y confirmar que los valores son aceptables.
	El sedimento celular del vial BD [®] Stem Cell Control no se resuspendió por completo.	Desechar el vial. Utilizar un vial nuevo y resuspender completamente el sedimento celular de acuerdo con las instrucciones de uso.
	Parámetros del instrumento inadecuados.	Seguir las instrucciones apropiadas de configuración del instrumento; optimizar los parámetros del instrumento según sea necesario.

REFERENCIAS

1. *Clinical Flow Cytometric Analysis of Neoplastic Hematolymphoid Cells; Approved Guideline—Second Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007. CLSI document H43-A2.
2. *Enumeration of Immunologically Defined Cell Populations by Flow Cytometry—Second Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007. CLSI document H42-A2.
3. Stelzer GT, Marti G, Hurley A, McCoy PJ, Lovett EJ, Schwartz A. US-Canadian consensus recommendations on the immunophenotypic analysis of hematologic neoplasia by flow cytometry: standardization and validation of laboratory procedures. *Cytometry*. 1997;30:214-230.
4. Centers for Disease Control. 1997 Revised guidelines for performing CD4⁺ T-cell determinations in persons infected with human immunodeficiency virus (HIV). *MMWR*. 1997;46:1-29.
5. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline—Fourth Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014. CLSI document M29-A4.
6. 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.
7. *Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions*. 4th ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016. CLSI document C24.
8. Marti G, Johnsen H, Sutherland R, Serke S. A convergence of methods for a worldwide standard for CD34+ cell enumeration. *J Hematotherapy*. 1998;7:105-109.

9. Gratama JW, Orfao A, Barnett D, et al. Flow cytometric enumeration of CD34+ hematopoietic stem and progenitor cells. *Cytometry*. 1998;34:128-142.
10. Sutherland DR, Nayyar R, Acton E, Giftakis A, Dean S, Mosiman VL. Comparison of two single-platform ISHAGE-based CD34 enumeration protocols on BD FACSCalibur and FACSCanto flow cytometers. *Cytotherapy*. 2009;11:595-605.

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.

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 COMERCIABILIDAD 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.

PATENTES Y MARCAS COMERCIALES

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

BD, el logotipo de BD, BD FACSLytic, BD Trucount, FACSCalibur, FACSCanto y Procount son marcas comerciales de Becton, Dickinson and Company o de sus empresas afiliadas. © 2023 BD. Todos los derechos reservados.

HISTORIAL

Revisión	Fecha	Cambios realizados
23-4896(09)	2022-06	Se ha actualizado para cumplir los requisitos del Reglamento (UE) 2017/746.
23-4896(10)	2023-07	Se ha actualizado la dirección legal del fabricante. Se han añadido las direcciones y el símbolo de los importadores de la UE y Suiza. Se ha actualizado el glosario de símbolos.



ERTEGAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
CoDirector Técnico - Apoderado

Glosario de símbolos

Remítase al etiquetado del producto para consultar los símbolos aplicables.

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 procesamiento 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
	Número de paciente
	Este lado hacia arriba
	No apilar

Símbolo	Significado
	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
	<n.º de envase>/<total de envases>
	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
	Importador
	Colocar la etiqueta del paciente únicamente en el área enmarcada
	Compatible con la resonancia magnética (RM)
	Compatibilidad condicional con la resonancia magnética (RM)
	Incompatible con la resonancia magnética (RM)
	Para uso con
	Este producto contiene goma natural seca
	Solo para exportación
	Instrumentos

Nota: La disposición del texto en los símbolos viene determinada por el diseño de la etiqueta.

INFORMACIÓN DE CONTACTO



**Becton, Dickinson and Company
BD Biosciences**

155 North McCarthy Boulevard
Milpitas, California 95035 USA



Becton Dickinson Ireland Ltd.

Donore Road, Drogheda
Co. Louth, A92 YW26
Ireland



Becton Dickinson Distribution Center NV

Laagstraat 57
9140 Temse, Belgium



BD Switzerland Sàrl

Route de Crassier 17
Business Park Terre-Bonne
Bâtiment A4
1262 Eysins
Switzerland



Becton Dickinson AG

Binningerstrasse 94
4123 Allschwil
Switzerland

BD Biosciences

European Customer Support

Tel +32.53.720.600
help.biosciences@bd.com

Australian and New Zealand Distributors:

Becton Dickinson Pty Ltd.

66 Waterloo Road
Macquarie Park NSW 2113
Australia

Becton Dickinson Limited

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

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

ClinicalApplications@bd.com



eifu.bd.com


ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
CoDirector Técnico - Apoderado

BD Stem Cell Enumeration **Guía de aplicación**

Para citómetros de flujo
BD FACSLytic™


STEFANO ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15043
Co-Director Técnico - Acreditado

23-21739(01)
2021-10
Español

R_x Only



Copyright

Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, transmitida, transcrita, almacenada en sistemas de recuperación, ni traducida a ningún idioma o lenguaje informático, de ninguna forma ni por medio alguno, ya sea electrónico, mecánico, magnético, óptico, químico, manual o cualquier otro, sin la autorización previa por escrito de BD.

La información de esta guía puede modificarse sin previo aviso. BD se reserva el derecho a modificar sus productos y servicios en cualquier momento para incorporar los últimos avances tecnológicos. Aunque esta guía se ha elaborado tomando todas las precauciones para asegurar su precisión, BD no asume responsabilidad alguna por errores u omisiones, ni por daños que se deriven de la aplicación o el uso de esta información. BD agradece cualquier sugerencia o corrección por parte de los clientes para mejorar el material.

Marcas comerciales

BD, el logotipo de BD, FACSLyric, FACSuite y Trucount son marcas comerciales de Becton, Dickinson and Company o de sus filiales. © 2021 BD. Todos los derechos reservados.

Información sobre normativas

Para uso diagnóstico in vitro.

Información sobre seguridad del láser

El citómetro de flujo BD FACSLyric™ es un producto láser de clase 1.

Historial

Revisión	Fecha	Cambio realizado
23-23926-00	2021-03	Versión inicial
23-21739(01)	2021-10	Se ha actualizado la dirección del representante autorizado. Se ha añadido la dirección del representante autorizado en Suiza. Se ha añadido una nota sobre el cálculo de los resultados. Se ha actualizado la tabla del flujo de trabajo del ensayo.



Matteo ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 19043
Co-Director Técnico - Apoderado

Contenido

Capítulo 1: Introducción	5
Acerca de esta guía	6
Asistencia técnica	7
Capítulo 2: Ensayo de BD® Stem Cell Enumeration	9
Acerca del ensayo	11
Flujo de trabajo del ensayo	12
Cómo añadir información de los reactivos a la biblioteca	13
Actualización de la configuración de referencia	15
Cómo añadir 7-AAD a la configuración de referencia	17
Ejecución del ensayo	21
Revisión del informe de laboratorio	24
Estrategia de definición de las áreas de selección	28
Ajuste de las áreas de selección	34
Ejemplo de definición de las áreas de selección: muestra de sangre periférica movilizada	36
Ejemplo de definición de las áreas de selección: muestra de leucoféresis (fresca)	39
Ejemplo de definición de las áreas de selección: muestra de leucoféresis (tras la descongelación)	42
Ejemplo de definición de las áreas de selección: muestra de médula ósea (fresca)	46
Ejemplo de definición de las áreas de selección: muestra de médula ósea (tras la descongelación)	50

Ejemplo de definición de las áreas de selección: muestra de sangre de cordón (fresca)53

Ejemplo de definición de las áreas de selección: muestra de sangre de cordón (tras la descongelación)57

Capítulo 3: Solución de problemas 61

Descripción general de la solución de problemas62

Ningún resultado notificado63

Resultados notificados incompletos65

La ubicación del área de selección es sospechosa, pero se han notificado todos los resultados66

Número insuficiente de eventos recopilados, pero se han notificado todos los resultados68

Advertencias generales69

Anticoagulante heparina72

Información de contacto73



ARTEMIAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
Co-Director Técnico - Aprobado

1

Introducción

Este capítulo abarca los siguientes temas:

- [Acerca de esta guía \(página 6\)](#)
- [Asistencia técnica \(página 7\)](#)



ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
CoDirector Técnico - Apoderado

Acerca de esta guía

Contenido de esta guía En esta guía se explican los flujos de trabajo de la adquisición y el análisis correspondientes al ensayo de BD[®] Stem Cell Enumeration, con el uso de la aplicación BD FACSuite[™] Clinical, y se describe el informe de laboratorio. También se incluye información de solución de problemas específica del ensayo.

Supuestos En esta guía se asume que ha leído las *Instrucciones de uso del sistema clínico BD FACSLytic[™]* y el *BD FACSLytic[™] Clinical Reference System* (Sistema de referencia clínica de BD FACSLytic[™]) y que está familiarizado con el funcionamiento del software y el citómetro. Los documentos proporcionan información detallada sobre la realización del control de calidad, la creación de la lista de trabajo y el procesamiento de muestras.

Información adicional Consulte las Instrucciones de uso de *BD[®] Stem Cell Enumeration Kit* para obtener información sobre cómo preparar las muestras.



STEFANI ZORZOLI
Farmacéutica - M.N. 15043
Co-Director Técnica - Apoderado

Asistencia técnica

Antes de ponerse en contacto con el servicio de asistencia técnica

Pruebe las siguientes opciones para obtener respuesta a preguntas técnicas y solucionar problemas:

- Lea la sección de esta guía específica de la operación que va a realizar.
- Consulte en esta guía la sección de solución de problemas específica del ensayo para obtener información sobre problemas concretos.
- Consulte la sección sobre solución de problemas de las *Instrucciones de uso del sistema clínico BD FACSLyric™* y el *BD FACSLyric™ Clinical Reference System* (Sistema de referencia clínica de BD FACSLyric™).

Contacto con el servicio de asistencia técnica

Para ponerse en contacto con el servicio de asistencia técnica:

1. Visite bdbiosciences.com/en-us.
2. Seleccione su región, según sea necesario.
3. Haga clic en **Support** (Asistencia).
4. Haga clic en **Contact Us** (Contáctenos) en el lateral izquierdo de la página.
5. Si reside fuera de EE. UU., expanda su país para obtener los datos de su región.

Cuando se ponga en contacto con BD Biosciences, tenga disponible la siguiente información:

- Nombre del producto, número de catálogo, número de serie y detalles sobre el funcionamiento reciente del sistema
- Análisis que está realizando
- Cualquier mensaje de error



MATEO ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15043
Co-Director Técnico - Apoderado

Esta página se ha dejado en blanco intencionadamente.



2

Ensayo de BD[®] Stem Cell Enumeration

Este capítulo abarca los siguientes temas:

- Acerca del ensayo (página 11)
- Flujo de trabajo del ensayo (página 12)
- Cómo añadir información de los reactivos a la biblioteca (página 13)
- Actualización de la configuración de referencia (página 15)
- Cómo añadir 7-AAD a la configuración de referencia (página 17)
- Ejecución del ensayo (página 21)
- Revisión del informe de laboratorio (página 24)
- Estrategia de definición de las áreas de selección (página 28)
- Ajuste de las áreas de selección (página 34)
- Ejemplo de definición de las áreas de selección: muestra de sangre periférica movilizada (página 36)
- Ejemplo de definición de las áreas de selección: muestra de leucoféresis (fresca) (página 39)
- Ejemplo de definición de las áreas de selección: muestra de leucoféresis (tras la descongelación) (página 42)

- Ejemplo de definición de las áreas de selección: muestra de médula ósea (fresca) (página 46)
- Ejemplo de definición de las áreas de selección: muestra de médula ósea (tras la descongelación) (página 50)
- Ejemplo de definición de las áreas de selección: muestra de sangre de cordón (fresca) (página 53)
- Ejemplo de definición de las áreas de selección: muestra de sangre de cordón (tras la descongelación) (página 57)



ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15043
CoDirector Técnico - Apoderado

Acerca del ensayo

El BD[®] Stem Cell Enumeration Kit se utiliza para la enumeración de poblaciones de células madre hematopoyéticas CD45⁺/CD34⁺ dobles positivas viables con el objetivo de determinar los recuentos absolutos (células/ μ l) de células CD34⁺ viables, así como el porcentaje de células madre hematopoyéticas CD45⁺/CD34⁺ viables (% CD34).

Descripción general del análisis

El reactivo contiene anticuerpos conjugados con fluorocromo que reconocen las células CD45 y CD34. El antígeno CD45 está presente en los leucocitos humanos y se expresa débilmente en las células progenitoras hematopoyéticas. El antígeno CD34 está presente en las células precursoras hematopoyéticas inmaduras y en todas las células formadoras de colonias hematopoyéticas en la médula ósea y la sangre, incluidas las células progenitoras unipotentes y pluripotentes. El kit contiene 7-amino-actinomicina-D (7-AAD) para evaluar la viabilidad de las células. Las células 7-AAD⁺ no son viables. El kit también contiene BD Trucount[™] Tubes para determinar los recuentos absolutos mediante la comparación entre eventos de microsferas y eventos celulares.

Las muestras se tiñen con anticuerpos conjugados con fluorocromo y 7-AAD, y los eritrocitos se lisan. Las muestras teñidas se adquieren en el citómetro de flujo y se analizan con la aplicación BD FACSuite[™] Clinical.



ARTEMIAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.M. 15643
Co-Director Técnico - Apoderado

Flujo de trabajo del ensayo

En la tabla siguiente se enumeran los pasos de un flujo de trabajo característico del ensayo.

Paso	Descripción
1	Introduzca el número de lote y la fecha de caducidad del reactivo en la biblioteca. Consulte Cómo añadir información de los reactivos a la biblioteca (página 13) .
2	Lleve a cabo cada día el control de calidad del funcionamiento del instrumento con BD [®] CS&T Beads. Consulte las <i>Instrucciones de uso del sistema clínico BD FACSLyric™</i> .
3	Actualice la configuración de referencia, según sea necesario. Consulte Actualización de la configuración de referencia (página 15) .
4	Añada 7-AAD a la configuración de referencia, según sea necesario. Consulte Cómo añadir 7-AAD a la configuración de referencia (página 17) .
5	Realice la calibración del ensayo y de la configuración de los tubos para Stem Cell + 7-AAD con BD [®] CS&T Beads. Consulte las <i>Instrucciones de uso del sistema clínico BD FACSLyric™</i> .
6	Prepare los controles de procesos y las muestras de pacientes. Para obtener más información, consulte las Instrucciones de uso de <i>BD[®] Stem Cell Enumeration Kit</i> .
7	Cree la lista de trabajo para los controles de procesos y las muestras de pacientes. Consulte Ejecución del ensayo (página 21) o las <i>Instrucciones de uso del sistema clínico BD FACSLyric™</i> .



ARTEMAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.M., 15643
Co-Director Técnico - Apoderado

Paso	Descripción
8	Adquiera muestras. Consulte Ejecución del ensayo (página 21) o las <i>Instrucciones de uso del sistema clínico BD FACSLytic™</i> .
9	Revise el informe de laboratorio. Consulte Revisión del informe de laboratorio (página 24) .
10	Ajuste las áreas de selección si es necesario. Consulte Estrategia de definición de las áreas de selección (página 28) .

Cómo añadir información de los reactivos a la biblioteca

Antes de comenzar, debe añadir el número de lote y la fecha de caducidad del BD[®] Stem Cell Reagent, 7-AAD y BD Trucount[™] Tubes a la biblioteca.

Para añadir el ID de lote y la fecha de caducidad de un reactivo a la biblioteca:

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

Se abre el espacio de trabajo Library (Biblioteca).

2. Expanda el menú **Beads and Reagents** (Microesferas y reactivos) y seleccione **Reagents** (Reactivos).

3. Seleccione Stem Cell Reagent o 7-AAD de la lista **Product Name** (Nombre del producto).

El panel de reactivos se abre en la parte inferior de la página.

4. Haga clic en **Add Lot** (Añadir lote).

Se abre el cuadro de diálogo **Add New Lot** (Añadir nuevo lote).



ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15043
Co-Director Técnico - Apodado

5. Introduzca manualmente el **Lot ID** (ID de lote), que se encuentra en la etiqueta del tubo.
6. Haga clic en el icono del calendario y seleccione en este la fecha de caducidad, que se encuentra en la etiqueta del tubo.
7. Marque la casilla **Current Lot** (Lote actual).
8. Haga clic en **OK** (Aceptar).

El ID de lote y la fecha de caducidad se añaden a las columnas adecuadas para el reactivo.

Nota: Asegúrese de añadir el número de lote y la fecha de caducidad del reactivo de BD[®] Stem Cell Reagent y 7-AAD antes de la adquisición. Solo es necesario hacer esto una vez para un lote de reactivo concreto.

Para añadir información de BD Trucount[™] Tubes a la biblioteca:

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

Se abre el espacio de trabajo Library (Biblioteca).

2. Expanda el menú **Beads and Reagents** (Microesferas y reactivos) y seleccione **Trucount Tubes** (Tubos Trucount).

El panel Trucount Tube Lot (Lote de Trucount Tube) se abre en la parte inferior de la página.

3. Haga clic en **Add** (Añadir).

4. Introduzca el ID de lote, la fecha de caducidad y las microesferas / sedimento en el campo correspondiente.

La información se encuentra en la etiqueta de la bolsa de BD Trucount[™] Tubes.

5. Asegúrese de que la casilla **Current Lot** (Lote actual) esté marcada.
6. Haga clic en **Done** (Listo).

Actualización de la configuración de referencia

Actualice la configuración de referencia cada 60 días.

Antes de empezar

- Prepare las BD[®] CS&T Beads conforme a las instrucciones de uso.
- Prepare las BD[®] FC Beads conforme a las instrucciones de uso correspondientes.
- Prepare tubos teñidos y sin teñir para 7-AAD conforme a las instrucciones de uso de *BD[®] Stem Cell Enumeration Kit*.

Nota: Si usa el Loader, asegúrese de que todos los tubos se adquieren en el plazo de una hora, incluidos los que contienen 7-AAD. Tenga en cuenta el tiempo que los tubos estarán en el Loader antes de comenzar la adquisición, de modo que el último tubo se adquiera en el plazo de una hora desde la tinción.

Procedimiento

Para actualizar la configuración de referencia:

1. En la barra de navegación, haga clic en **Setup & QC** (Calibración y CC).

Se abre el espacio de trabajo Setup & QC (Calibración y CC).

2. En el panel **Setup & QC Options** (Opciones de calibración y control de calidad), seleccione **Update Reference Settings** (Actualizar configuración de referencia) en el menú **Task** (Tarea).
3. Seleccione entre **Manual** y **Universal Loader** para la **Loading Option** (Opción de carga).
4. Si usa el Loader, seleccione **30 Tube Rack** (Gradilla de 30 tubos) o **40 Tube Rack** (Gradilla de 40 tubos) para el **Carrier Type** (Tipo de soporte).
5. Seleccione **Lyse Wash** (Lisado/lavado) para el **Reference Settings Name** (Nombre de la configuración de referencia).
6. En el campo **CS&T Bead Lot** (Lote de CS&T Beads), seleccione el lote de microesferas correspondiente.

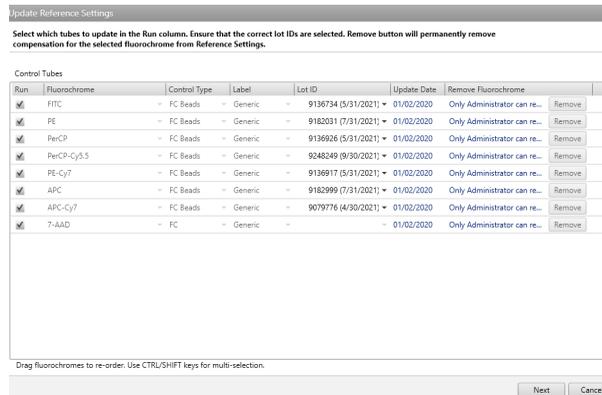


FABRICE ZORZOLI
Fabricación - M.N. 19043
Co-Director Técnico - Apoderado

7. Haga clic en **Start** (Inicio).

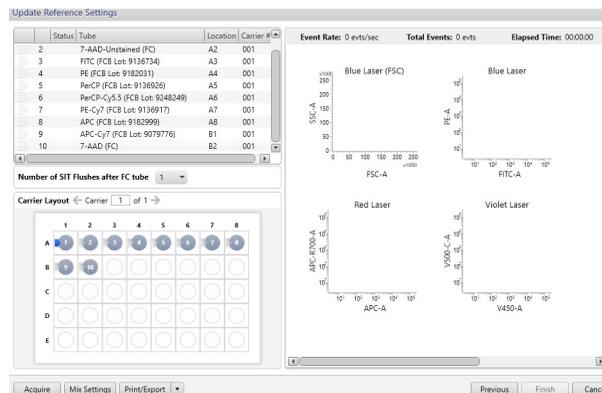
Se abre el cuadro de diálogo **Update Reference Settings** (Actualizar configuración de referencia).

8. En la columna **Run** (Ejecutar), seleccione los fluorocromos que desee actualizar.



9. Haga clic en **Next** (Siguiete).

10. Si utiliza el Loader, agite cada tubo en el agitador vorticial y colóquelo en la gradilla conforme a la disposición del cuadro de diálogo **Update Reference Settings** (Actualizar configuración de referencia).



[Handwritten Signature]
ATECAN ZORZOLI
 Farmacéutico - M.M. 15643
 Co-Director Técnico - Apodado

11. Haga clic en **Acquire** (Adquirir).

La matriz de valores de desbordamiento de los fluorocromos seleccionados se actualiza.

Para la adquisición manual, siga las indicaciones del software para cargar y descargar los tubos. Confirme que el indicador LED de estado situado en la base del puerto de tubos manual está en verde antes de cargar un tubo. Consulte las *Instrucciones de uso del sistema clínico BD FACSLyric™* para obtener más información.

Cómo añadir 7-AAD a la configuración de referencia

Añada 7-AAD a la configuración de referencia de lisado/lavado en los siguientes momentos:

- Antes de realizar el ensayo por primera vez
- Cuando se use un nuevo lote de BD[®] CS&T Beads sin llevar a cabo una transferencia de lotes de microesferas.
- Cuando lo recomiende el servicio de asistencia técnica de BD después de las tareas de mantenimiento o revisión del citómetro.

Antes de empezar

- Prepare las BD[®] CS&T Beads conforme a las instrucciones de uso.
- Cuando genere nuevos valores de solapamiento con BD[®] FC Beads, prepare las microesferas conforme a las instrucciones de uso correspondientes.
- Prepare tubos teñidos y sin teñir para 7-AAD conforme a las instrucciones de uso de *BD[®] Stem Cell Enumeration Kit*.

Procedimiento

Para añadir un fluorocromo:

1. En la barra de navegación, haga clic en **Setup & QC** (Calibración y CC).



TEAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15043
Co-Director Técnico - Aprobado

Se abre el espacio de trabajo Setup & QC (Calibración y CC).

2. En el panel **Setup & QC Options** (Opciones de calibración y control de calidad), seleccione **Add Fluorochromes** (Añadir fluorocromos) en el menú **Task** (Tarea).
3. Seleccione entre **Manual** y **Universal Loader** para la **Loading Option** (Opción de carga).
4. Si usa el Loader, seleccione **30 Tube Rack** (Gradilla de 30 tubos) o **40 Tube Rack** (Gradilla de 40 tubos) para el **Carrier Type** (Tipo de soporte).
5. Seleccione **Lyse Wash** (Lisado/lavado) para el **Reference Settings Name** (Nombre de la configuración de referencia).
6. En el campo **CS&T Bead Lot** (Lote de CS&T Beads), seleccione el lote de microesferas correspondiente.
7. Haga clic en **Start** (Inicio).

Se abre el cuadro de diálogo Add Fluorochromes (Añadir fluorocromos).

8. Haga clic en **Add** (Añadir).
9. Utilice los menús para añadir información sobre los tubos de control.
 - En la columna **Fluorochrome** (Fluorocromo), seleccione 7-AAD.
 - En la columna **Control Type** (Tipo de control), seleccione FC.
 - En la columna **Label** (Etiqueta), seleccione **Generic** (Genérica).
 - No introduzca información en la columna **Lot ID** (ID de lote).
 - En la columna **Unstained** (Sin teñir), seleccione **7-AAD - Unstained FC** (7-AAD - FC sin teñir).

El sistema le pedirá un tubo 7-AAD - sin teñir independiente.

10. Haga clic en **Next** (Siguiente).

Se abre el cuadro de diálogo **Load Tube** (Cargar tubo). Siga las indicaciones del software para cargar los tubos correspondientes. Si utiliza el Loader, agite los tubos en el agitador vorticial justo antes de cargar la gradilla.

Cuando las BD[®] CS&T Beads se han adquirido, aparecerá una marca de verificación verde y el puntero de ejecución se moverá al siguiente tubo.

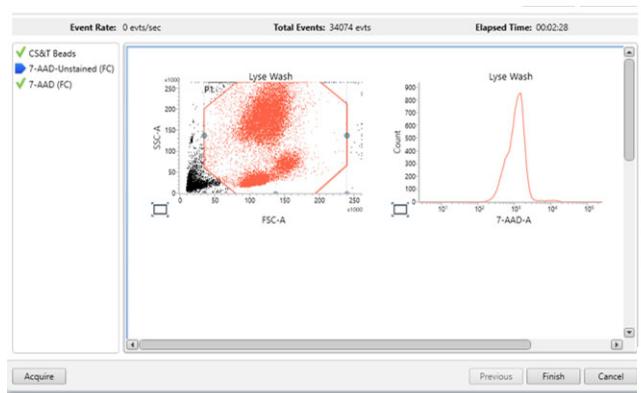
11. Cuando se le indique, retire el tubo de BD[®] CS&T Beads y, a continuación, cargue el tubo de control 7-AAD - sin teñir (FC) en el puerto de tubos manual.

Durante la adquisición, se muestran los datos en gráficos de puntos.

12. Cuando se le indique, retire el tubo 7-AAD - sin teñir (FC) y, a continuación, cargue el tubo 7-AAD (FC) en el puerto de tubos manual.

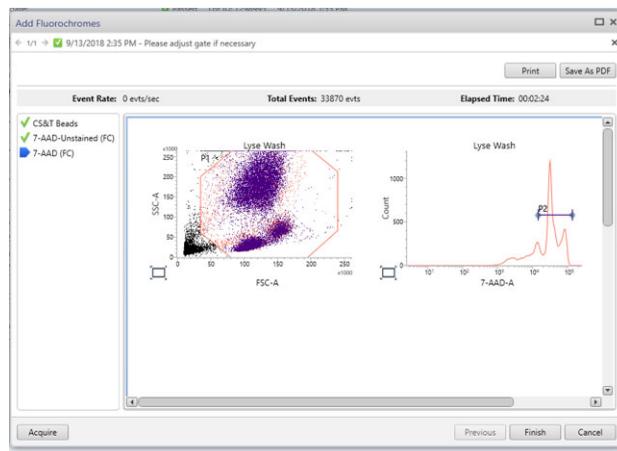
13. Tras adquirir ambos tubos, ajuste manualmente el área de selección **P1** del gráfico de puntos para el tubo 7-AAD - sin teñir (FC) de forma que abarque todas las células.

No incluya los residuos en el área de selección.



[Handwritten Signature]
ORTECAN ZORZOLI
 Farmacéutico - M.N. 15043
 Co-Director Técnico - Apoderado

14. Coloque el puntero de ejecución en la muestra 7-AAD (FC) y asegúrese de que el área de selección P1 abarca la misma población de células.
15. Ajuste el área de selección P2 en el histograma para que abarque los picos principales, como se muestra.



16. Haga clic en **Finish** (Finalizar).

Se añade 7-AAD a la configuración de tubos existentes y las configuraciones de referencia se actualizan para incluir los SOV medidos del nuevo fluorocromo.


STEFANO ZORZOLI
Farmacofisico - MM. 15043
Co-Direttore Tecnica - Apoderado

Ejecución del ensayo

Para ejecutar el ensayo BD[®] Stem Cell Enumeration, se crea una lista de trabajo y después se adquieren las muestras.

Antes de empezar

1. Lleve a cabo cada día el control de calidad del funcionamiento con BD[®] CS&T Beads.

2. Realice la calibración del ensayo y de la configuración de los tubos para el ensayo BD[®] Stem Cell Enumeration.

Recomendamos que marque las casillas Run Setup (Ejecutar la calibración) y Generate Reports (Generar informes).

3. Asegúrese de que el número de lote y la fecha de caducidad actuales del BD[®] Stem Cell Reagent, 7-AAD y los BD Trucount[™] Tubes se han introducido en la biblioteca. Consulte [Cómo añadir información de los reactivos a la biblioteca \(página 13\)](#).

Procedimiento

Para crear una lista de trabajo:

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

Se abre el espacio de trabajo Worklists (Listas de trabajo).

2. En la pestaña **Manage Worklists** (Administrar listas de trabajo), haga clic en **New** (Nueva).

Se abre una lista de trabajo vacía en una pestaña nueva.

3. En la sección **Worklist Entries** (Entradas de lista de trabajo), seleccione la tarea correspondiente del menú **Task** (Tarea).

Nota: Cree una tarea Stem Cell Control para cada control del proceso que esté llevando a cabo.

4. Introduzca manualmente el Sample ID (ID de la muestra) de cada tarea.
5. Para cada muestra Stem Cell + 7-AAD, introduzca la siguiente información, según sea necesario:
 - Case Number (Número de caso)
 - Pack Volume (Volumen de unidad)
 - Dilution Factor (Factor de dilución)
 - Sample Name (Nombre de muestra)
 - Body Weight (Peso corporal)
 - Sample Type (Tipo de muestra) (del menú)
6. Introduzca palabras clave adicionales si fuera necesario.
7. En la sección **Loading Options** (Opciones de carga), seleccione **Manual** del menú **Loading Option** (Opción de carga).

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

8. (Opcional) Nombre la lista de trabajo según sea necesario.

Para adquirir las muestras:

1. Sitúe el puntero de ejecución sobre la muestra que quiere procesar.

Nota: Adquiera las muestras Stem Cell Control y confirme que el resultado es correcto antes de adquirir las muestras de pacientes Stem Cell + 7-AAD.

2. En la barra **Worklist Controls** (Controles de lista de trabajo), seleccione **Run from Pointer** (Ejecutar desde puntero) del menú **Run** (Ejecutar).
3. Confirme el ID de lote de los BD Trucount™ Tubes que está utilizando.

4. Agite cada tubo teñido en el agitador vorticial durante 3-5 segundos a velocidad baja inmediatamente antes de la adquisición.
5. Siga las indicaciones del software para cargar o descargar los tubos.

Confirme que el indicador LED de estado situado en la base del puerto de tubos manual está en verde antes de cargar un tubo. Consulte las *Instrucciones de uso del sistema clínico BD FACSLyric™* para obtener más información.

La adquisición continuará hasta que se cumplan todos los criterios de detención:

- Células CD45+ viables: 75 000 eventos recopilados
- Células CD34+ viables: 125 eventos recopilados
- Microesferas Trucount: 1000 eventos recopilados

Si cualquiera de los criterios de detención no se cumple, la adquisición se detendrá tras 10 minutos. Si cualquiera de los criterios de detención no se cumple y la adquisición ha superado el tiempo de espera antes de 10 minutos, consulte [Número insuficiente de eventos recopilados, pero se han notificado todos los resultados \(página 68\)](#).

6. Examine cada gráfico de puntos.

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



STEPHAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15043
Co-Desarrollador Técnico - Apoderado

Revisión del informe de laboratorio

El informe de laboratorio Stem Cell + 7-AAD contiene información específica del ensayo y del paciente, información del lote del reactivo, un resumen de los resultados que muestra estadísticas de la población de células, mensajes de control de calidad y gráficos de puntos con áreas de selección utilizados para analizar la muestra.

Ver el informe de laboratorio

1. Haga clic en la pestaña Lab Report (Informe de laboratorio) para abrir el informe.
2. Revise la página 1 del informe de laboratorio.
 - a. Revise la información sobre el citómetro, los reactivos, la muestra y el paciente para determinar su exactitud.
 - b. Revise el resumen de resultados que muestra las estadísticas de la población de células.

La mayoría de los resultados notificados son valores calculados. Las ecuaciones utilizadas para calcular los valores se muestran en la tabla que aparece tras la imagen de un informe de laboratorio en el siguiente paso.



TECAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.M. 15843
CoDirector Técnico - Apoderado

- c. Revise los mensajes de control de calidad para abordar posible problemas y determinar si afectan a los resultados. Consulte [Solución de problemas \(página 61\)](#).

Stem Cell + 7-AAD: Lab Report

Sample ID: AC01_BM_Neat_r1
Sample Name:
Case Number:
Acquired Using: 28-JUN-2020_AC01_BM_Marg_TM
Truocount Lot ID: 20071
Cytometer: BD FACSLyric
Operator: Admin User

Approved: 2/15/2021 2:22:29 PM
Beads Per Pellet: 47100
Cytometer SN: Z6591800015
Director:
Department: None

Entry Status: Approved
Software: BD FACSuite Clinical v1.4
Institution: None
Address:

Tube Name: Stem Cell + 7-AAD

Events Acquired	89,332	Acquisition Date	7/28/2020
Stem Cell Reagent Lot ID	0111871	Acquisition Time	5:03:10 PM
7-AAD Lot ID	0111890	Acquisition Duration (sec)	180.0
Sample Type	Fresh Bone Marrow	Dilution Factor	1.0
Keyword 1	Test 1	Pack Volume (mL)	20.0
Keyword 2	Test 2	Body Weight of Recipient (kg)	50.0

Results Summary

Label	Events/Value	Abs Cnt (cells/ μ L)
Bead Events	4,057	
Viable CD45+	73,442	① 8,526
Viable CD34+ Stem Cell	447	② 52
Total CD45+		③ 9,155
Total CD34+ Stem Cell		④ 54
Viable CD34+ Stem Cell as % of Viable CD45+	⑤ 0.61	
Total CD34+ Stem Cell as % of Total CD45+	⑥ 0.59	
CD34+ Stem Cell Viability (%)	⑦ 96.34	
CD45+ Viability (%)	⑧ 93.13	
Viable CD34+ Stem Cell per Body Weight of Recipient (cells/kg)	⑨ 20,758	
Viable CD34+ Stem Cell per Pack (cells/pack)	⑩ 1,037,895	

QC Messages

- Viable CD45+ gate does not contain requested 75,000 events

Showing 1 of 1 QC Messages

For In Vitro Diagnostic Use. Stem Cell + 7-AAD v1.0 Page 1 of 2 Printed: 2/15/2021 2:22:29 PM

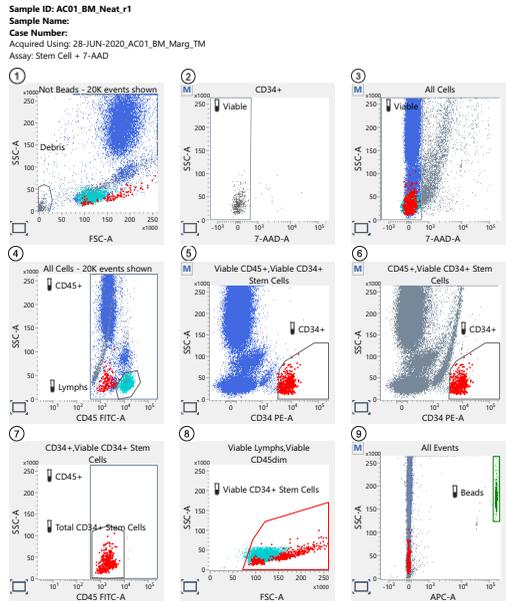
ETECAN ZORZOLI
 Farmacéutico - M.N. 15043
 Co-Director Técnico - Apodado

Resultado	Ecuación
Volumen de muestra	(Eventos de microesferas × volumen de muestra [μl])/ recuento de microesferas de BD Trucount™ (en la etiqueta de la bolsa)
1	(Eventos de CD45 ⁺ viables/volumen de muestra) × factor de dilución
2	(Eventos de células madre CD34 ⁺ viables/volumen de muestra) × factor de dilución
3	(Eventos de CD45 ⁺ totales ^a /volumen de muestra) × factor de dilución
4	(Eventos de células madre CD34 ⁺ totales ^b /volumen de muestra) × factor de dilución
5	(Recuento absoluto de células madre CD34 ⁺ viables/ recuento absoluto de células CD45 ⁺ viables) × 100 %
6	(Recuento absoluto de células madre CD34 ⁺ totales/ recuento absoluto de células CD45 ⁺ totales) × 100 %
7	(Recuento absoluto de células madre CD34 ⁺ viables/ recuento absoluto de células madre CD34 ⁺ totales) × 100 %
8	(Recuento absoluto de células CD45 ⁺ viables/recuento absoluto de células CD45 ⁺ totales) × 100 %
9	(Células madre CD34 ⁺ viables por unidad/kg de peso corporal del receptor) = células/kg
10	(Recuento absoluto de células CD34 ⁺ viables × volumen de unidad × 1000 μl/ml) = células/unidad

- Para obtener este valor, desplácese sobre el área de selección de células CD45⁺ en el gráfico de puntos de SSC-A frente a CD45 FITC-A (gráfico 4). El número de eventos se muestra en la ventana.
- Para obtener este valor, desplácese sobre el área de selección de las células madre CD34⁺ totales en el gráfico de puntos de SSC-A frente a CD45 FITC-A (gráfico 7). El número de eventos se muestra en la ventana.

Nota: Al calcular los resultados, el software redondea los valores al entero más cercano. Por lo tanto, los valores calculados manualmente podrían diferir ligeramente.

- Analice los gráficos de puntos de la página 2 del informe de laboratorio y ajuste las áreas de selección, según sea necesario. Amplíe cada gráfico de puntos para definir más fácilmente el área de selección de la población de células relevante.



[Handwritten Signature]
ORTECAN ZORZOLI
 Farmacéutico - M.N. 15643
 Co-Director Técnico - Apoderado

For In Vitro Diagnostic Use.

Stem Cell + 7-AAD v1.0
 Page 2 of 2

Printed: 2/15/2021 2:22:29 PM

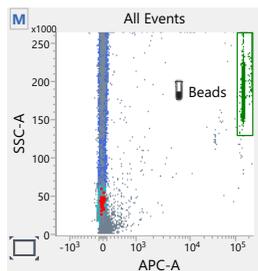
Gráfico	Área(s) de selección	Gráfico	Área(s) de selección
1	Residuos	6	CD34+
2	Células viables	7	CD45+, células madre CD34+ totales
3	Células viables	8	Células madre CD34+ viables
4	CD45+, linfocitos	9	Microesferas
5	CD34+		

Estrategia de definición de las áreas de selección

En esta sección se explica la estrategia de definición de las áreas de selección utilizada para analizar la muestra. Todas las áreas de selección, excepto la de residuos, son automáticas y, en la mayoría de los casos, no es necesario ajustarlas. No obstante, recomendamos que revise cada gráfico de puntos. El ejemplo mostrado corresponde a una muestra de sangre periférica fresca.

Analice la muestra utilizando la siguiente estrategia de definición de las áreas de selección:

1. Identifique las microesferas de BD Trucount[™] en el gráfico de puntos de APC-A frente a SSC-A (gráfico 9).

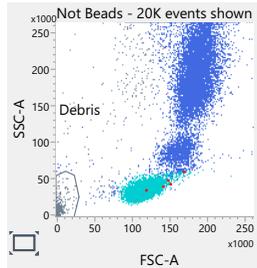


El gráfico de puntos muestra todos los eventos fuera del área de selección. Los eventos en el área de selección de microesferas se muestran en verde.

Acción: Amplíe el área de selección de microesferas hacia el margen derecho del gráfico de puntos para incluir todos los eventos de microesferas, si fuera necesario.


FRATECAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15043
CoDirector Técnico - Apoderado

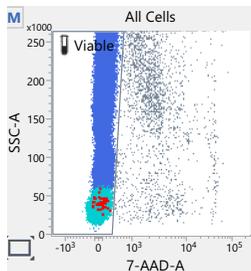
- Excluya los residuos en el gráfico de puntos de FSC-A frente a SSC-A (gráfico 1).



El gráfico de puntos muestra todos los eventos que no son microesferas. Los eventos del área de selección de residuos se muestran en gris.

Acción: Ajuste el área de selección para abarcar los residuos de la esquina inferior izquierda del gráfico de puntos. El resto de eventos fuera del área de selección se corresponden con la población de todas las células.

- Identifique las células viables (7-AAD-eventos negativos) en el gráfico de puntos de 7-AAD-A frente a SSC-A de la población de todas las células (gráfico 3).

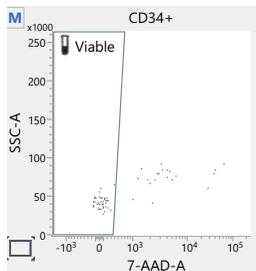


[Handwritten signature]
FRANCESCO ZORZOLI
 Farmacólogo - M.M. 15043
 Co-Director Técnico - Apoderado

El gráfico muestra todos los eventos excepto las microesferas y los residuos. Los eventos del área de selección de células viables incluyen las poblaciones de células CD45⁺ (azul), linfocitos (azul claro) y células CD34⁺ (rojo).

Acción: Confirme que el área de selección de células viables abarca únicamente los eventos 7-AAD⁻.

4. Confirme las células viables en el gráfico de puntos de 7-AAD-A frente a SSC-A de la población de células CD34⁺ (gráfico 2).

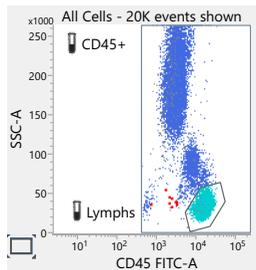


Se muestran los eventos de células CD34⁺ viables y no viables, identificados en los gráficos 5 y 6.

Acción: Confirme que el área de selección de células viables abarca únicamente los eventos 7-AAD⁻.

Nota: Este es el único lugar en el que se muestran eventos de células CD34⁺ no viables (7-AAD⁺).

5. Identifique los linfocitos en el gráfico de puntos de CD45 FITC-A frente a SSC-A de la población de todas las células (gráfico 4).

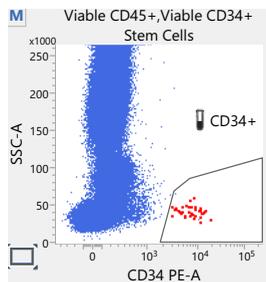


[Handwritten signature]
ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.M. 19643
CoDinexa Técnica - Apoderado

El gráfico muestra todos los eventos excepto las microesferas y los residuos. Las células CD45+ (azul) y los linfocitos (azul claro) se identifican mediante el área de selección de células CD45+ y el área de selección de linfocitos, respectivamente.

Acciones: Ajuste el área de selección de células CD45+ para incluir todos los eventos, incluidas todas las células CD45^{débil}. Ajuste el área de selección de linfocitos para abarcar la población de linfocitos.

6. Identifique los eventos de células CD34+ entre los eventos de células CD45+ viables en el gráfico de puntos de CD34 PE-A frente a SSC-A (gráfico 5).



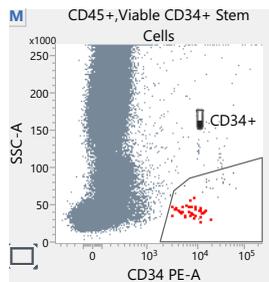
Se muestran los eventos de células CD45+ viables de los gráficos 3 y 4. Los eventos de células CD34+ (rojo) se identifican mediante el área de selección de células CD34+.

Acción: Ajuste el área de selección de células CD34+ para abarcar el grupo de células de la esquina inferior derecha del gráfico. No reduzca la altura del área de selección.

Nota: No se muestran los eventos de células CD34+ no viables.


FRATECAN ZORZOLI
 Farmacéutico - M.N. 15043
 Co-Director Técnico - Apoderado

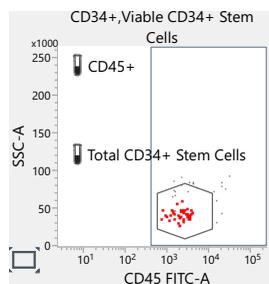
7. Excluya los eventos de células CD45+ no viables de la población de células CD34+ en el gráfico de puntos de CD34 PE-A frente a SSC-A (gráfico 6).



Se muestran los eventos de células CD45+ totales (viables y no viables) del gráfico 4. Esta área de selección se utiliza para eliminar franjas de plaquetas y otros residuos del análisis.

Acción: Ajuste el área de selección de las células CD34+ para excluir cualquier evento de células CD45+ que sea visible en este gráfico, pero no en el gráfico 5.

8. Identifique los eventos de células madre CD34+ totales en el gráfico de puntos de CD45+ FITC-A frente a SSC-A (gráfico 7).



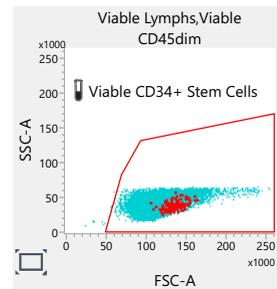
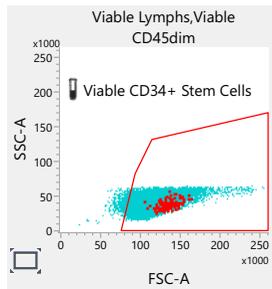
[Handwritten signature]
ARTECAN ZORZOLI
 Farmacéutico - M.N. 15043
 Co-Desarrollador Técnico - Apoderado

Se muestran todos los eventos de células CD45+ de la población de células CD34+, identificados en los gráficos 5 y 6.

Acción: Confirme que el área de selección de las células madre CD34+ totales abarca el grupo de células CD45 débil dentro del área de selección de células CD45+.

Nota: La altura del área de selección es la misma que la de los gráficos 5 y 6. El área de selección se fija mediante el algoritmo de las células CD34+ totales, que es necesario para la estimación de la viabilidad de las células CD34.

- Identifique las células madre como eventos SSC^{bajo} en el gráfico de puntos de FSC-A frente a SSC-A (gráfico 8). El ejemplo mostrado corresponde a una muestra de leucofóresis fresca.



Se muestran los linfocitos viables, identificados en los gráficos 3 y 4, y los eventos de CD45 débil viables, identificados en el gráfico 7 mediante el área de selección de células madre CD34+ totales.

Acción: Ajuste el área de selección de células madre CD34+ viables para abarcar los linfocitos viables (azul claro).

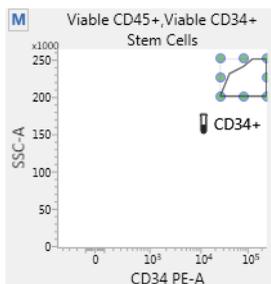
[Handwritten signature]
 ESTEBAN ZORZOLI
 Farmacéutico - M.N. 19843
 Co-Director Técnico - Apoderado

Ajuste de las áreas de selección

Las áreas de selección proporcionadas se fijan automáticamente; no obstante, se pueden ajustar en algunos tipos de muestras. Verifique que las poblaciones de todos los gráficos de puntos están dentro de las áreas de selección antes de notificar los resultados.

Para cambiar el tamaño de un área de selección o moverla:

1. Haga clic en un área de selección del gráfico de puntos para que el área de selección esté en modo enlazado.

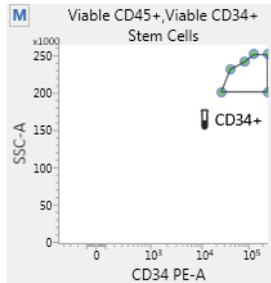


2. Haga clic en uno de los círculos y arrástrelo para cambiar el tamaño del área de selección.
3. Haga clic en una de las líneas entre los círculos y arrástrela para mover el área de selección.
4. Haga clic dentro de cualquiera de los círculos para rotar el área de selección.
5. Haga clic en el gráfico de puntos para salir del modo enlazado.


FRANCESCO ZORZOLI
Farmacofuturo - M.M. 19043
Co-Direttore Tecnico - Apoderado

Para ajustar la forma del área de selección:

1. Haga doble clic en un área de selección del gráfico de puntos para que el área de selección esté en modo vértice.



2. Haga clic en uno de los círculos y arrástrelo para cambiar la forma del área de selección.
3. Haga clic en una de las líneas entre los círculos y arrástrela para mover el área de selección.
4. Haga clic dentro de cualquiera de los círculos para rotar el área de selección.
5. Haga clic en el gráfico de puntos para salir del modo vértice.

Consulte el *BD FACSLyric™ Clinical Reference System* (Sistema de referencia clínica de BD FACSLyric™) para obtener más información.

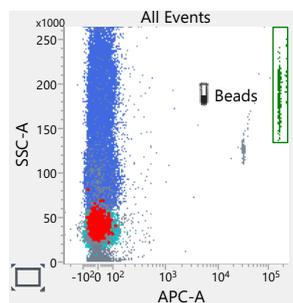

STEFANO ZORZOLI
 Farmacofuturo - MM. 15043
 Co-Direttore Tecnico - Apoderado

Ejemplo de definición de las áreas de selección: muestra de sangre periférica movilizada

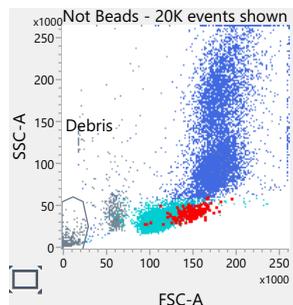
En esta sección se muestra la estrategia de definición de las áreas de selección para una muestra de sangre periférica movilizada. No se ajustó manualmente ninguna de las áreas de selección del ejemplo.

Revise los gráficos de puntos del informe de laboratorio en el orden que se indica a continuación.

1. Gráfico 9:

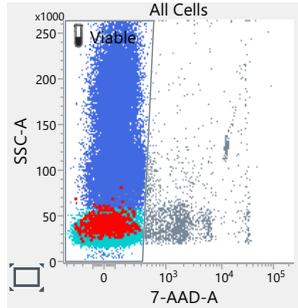


2. Gráfico 1:

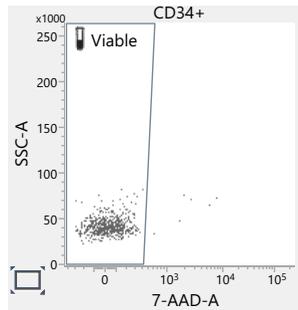


ARTECAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
Co-Director Técnico - Apoderado

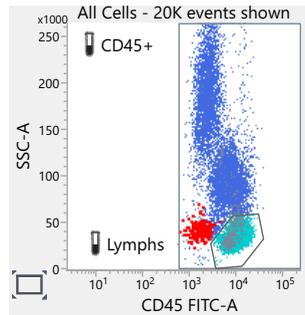
3. Gráfico 3:



4. Gráfico 2:

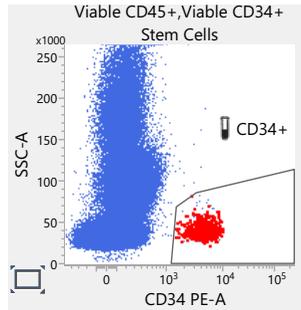


5. Gráfico 4:

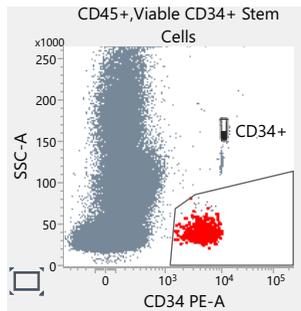


[Handwritten Signature]
ESTEBAN ZORZOLI
 Farmacéutico - M.N. 15043
 Co-Director Técnico - Apoderado

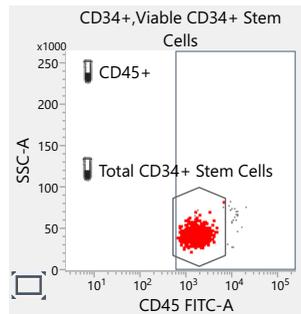
6. Gráfico 5:



7. Gráfico 6:

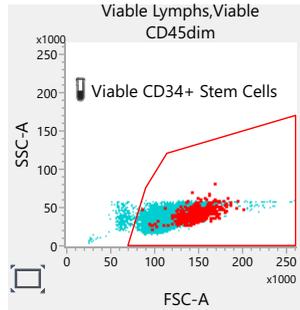


8. Gráfico 7:




CRISTIAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.M. 15043
Co-Director Técnico - Apoderado

9. Gráfico 8:

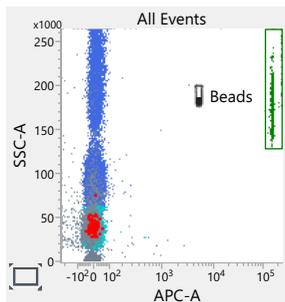


Ejemplo de definición de las áreas de selección: muestra de leucoféresis (fresca)

En esta sección se muestra la estrategia de definición de las áreas de selección para una muestra de leucoféresis fresca. No se ajustó manualmente ninguna de las áreas de selección del ejemplo.

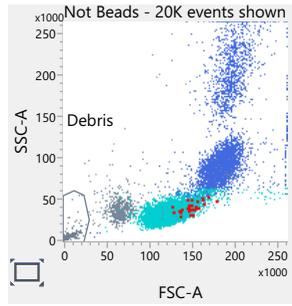
Revise los gráficos de puntos del informe de laboratorio en el orden que se indica a continuación.

1. Gráfico 9:

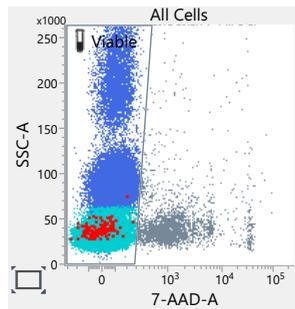


[Handwritten Signature]
ESTEBAN ZORZOLI
 Farmacéutico - M.N. 15043
 Co-Director Técnico - Acreditado

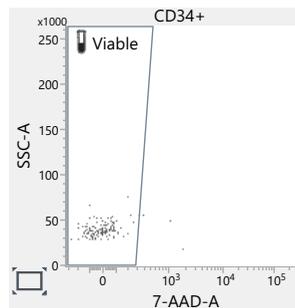
2. Gráfico 1:



3. Gráfico 3:

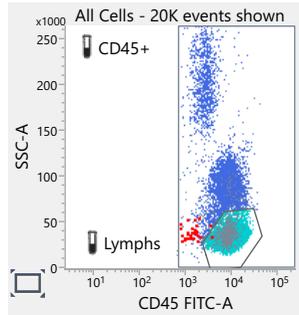


4. Gráfico 2:

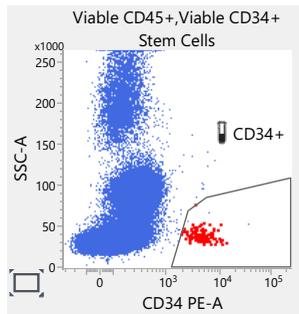



ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15043
Co-Director Técnico - Apodado

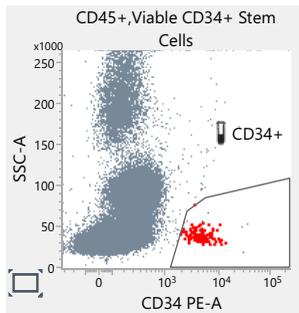
5. Gráfico 4:



6. Gráfico 5:

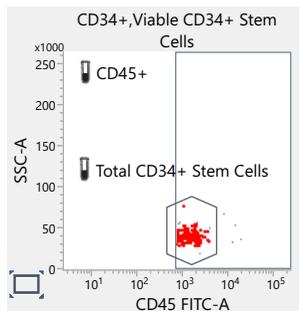


7. Gráfico 6:

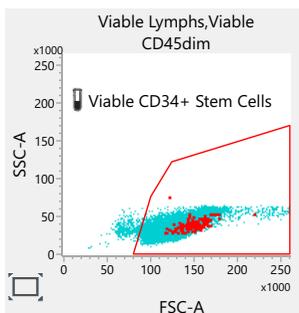



PTECAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
CoDirector Técnico - Apoderado

8. Gráfico 7:



9. Gráfico 8:



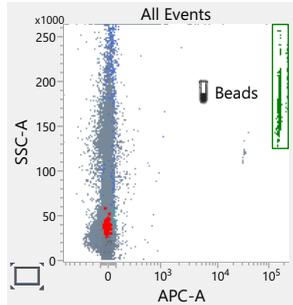
Ejemplo de definición de las áreas de selección: muestra de leucoféresis (tras la descongelación)

En esta sección se muestra la estrategia de definición de las áreas de selección para una muestra de leucoféresis tras su descongelación. No se ajustó manualmente ninguna de las áreas de selección del ejemplo.

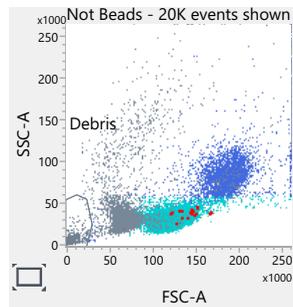

ESTERCAH ZORZOLI
Farmacéutica - M.N. 15043
Co-Directora Técnica - Aprobada

Revise los gráficos de puntos del informe de laboratorio en el orden que se indica a continuación.

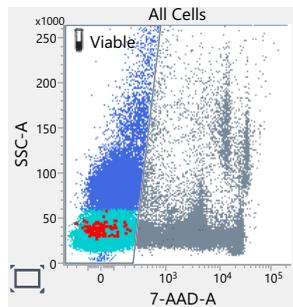
1. Gráfico 9:



2. Gráfico 1:

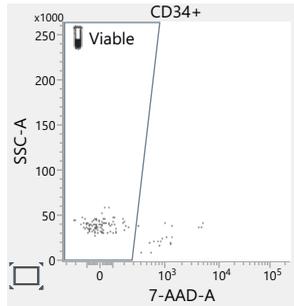


3. Gráfico 3:

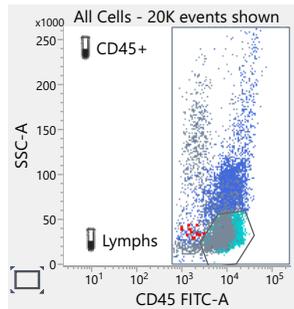


[Handwritten Signature]
MATEAN ZORZOLI
 Farmacéutico - M.N. 15043
 Co-Director Técnico - Acreditado

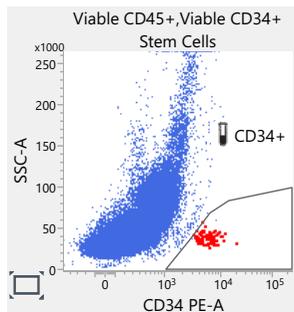
4. Gráfico 2:



5. Gráfico 4:

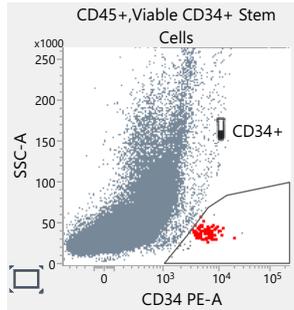


6. Gráfico 5:

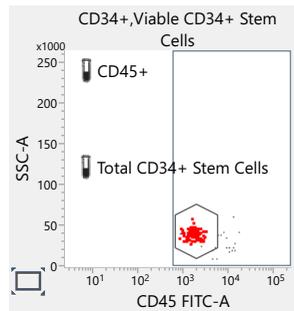


[Handwritten Signature]
ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
Co-Director Técnico - Apoderado

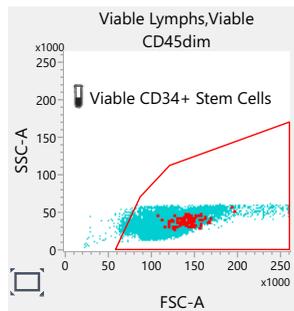
7. Gráfico 6:



8. Gráfico 7:



9. Gráfico 8:



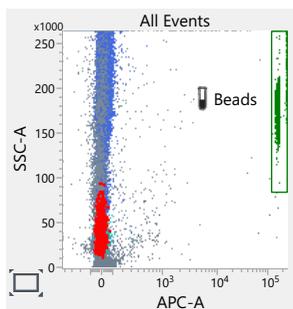

ESTECAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15843
Co-Director Técnico - Apoderado

Ejemplo de definición de las áreas de selección: muestra de médula ósea (fresca)

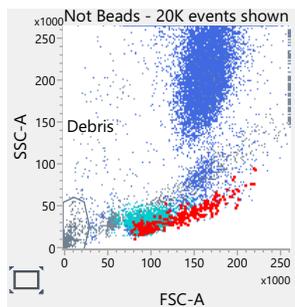
En esta sección se muestra la estrategia de definición de las áreas de selección para una muestra de médula ósea fresca. El área de selección de células CD34+ del gráfico 6 se ajustó manualmente para excluir la franja de plaquetas.

Revise los gráficos de puntos del informe de laboratorio en el orden que se indica a continuación.

1. Gráfico 9:

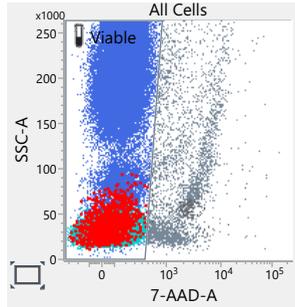


2. Gráfico 1:

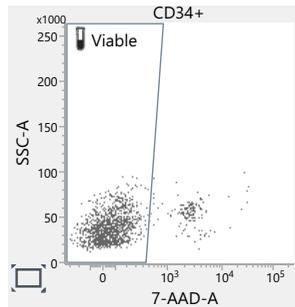



ARTEMAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.A. 15643
Coordinador Técnico - Apoderado

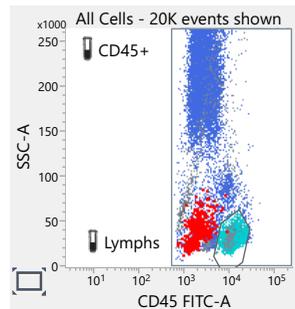
3. Gráfico 3:



4. Gráfico 2:

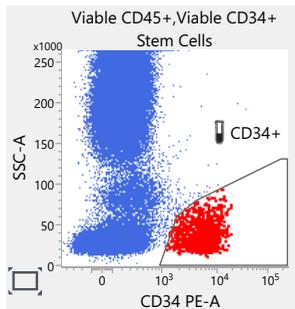


5. Gráfico 4:



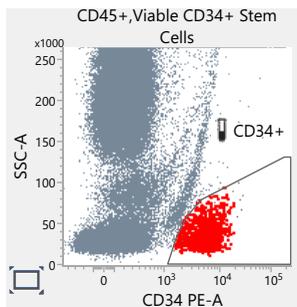
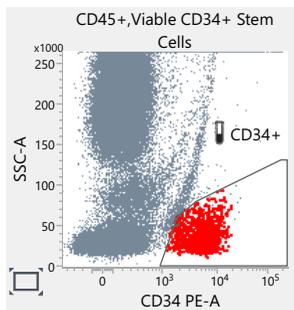

FABRICE ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15043
Co-Director Técnico - Apotecinado

6. Gráfico 5:



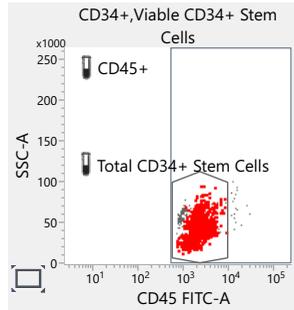
7. Gráfico 6:

El área de selección del panel inferior se ajustó para eliminar la población gris, que representa la franja de plaquetas.

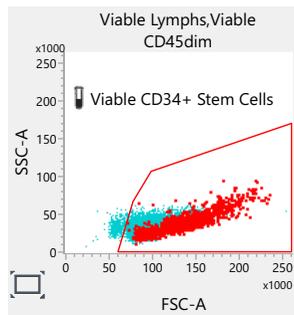



ARTEAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
Co-Director Técnico - Apodetrado

8. Gráfico 7:



9. Gráfico 8:



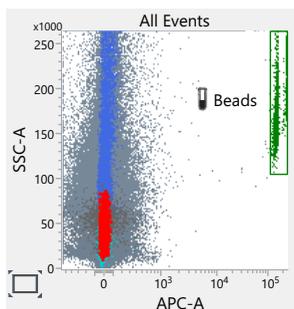
ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15043
Co-Director Técnico - Apoderado

Ejemplo de definición de las áreas de selección: muestra de médula ósea (tras la descongelación)

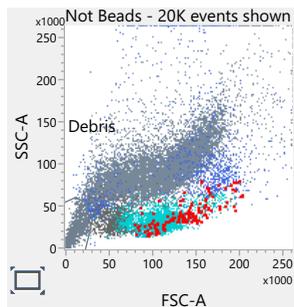
En esta sección se muestra la estrategia de definición de las áreas de selección para una muestra de médula ósea tras su descongelación. No se ajustó manualmente ninguna de las áreas de selección del ejemplo.

Revise los gráficos de puntos del informe de laboratorio en el orden que se indica a continuación.

1. Gráfico 9:

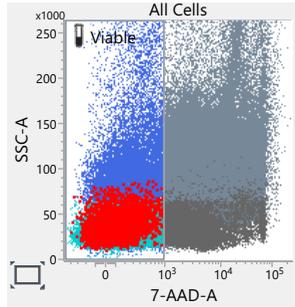


2. Gráfico 1:

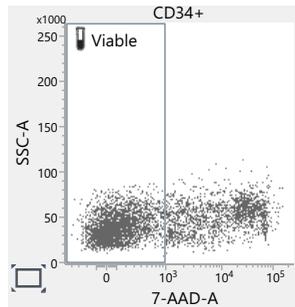



STEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.M. 19643
CoDirectivo Técnico - Apoderado

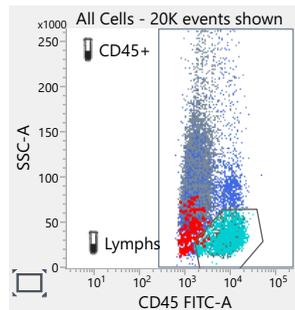
3. Gráfico 3:



4. Gráfico 2:

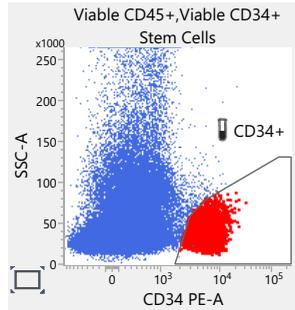


5. Gráfico 4:

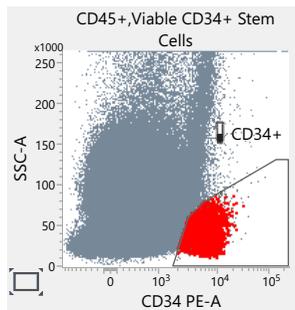



ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 19843
Co-Director Técnico - Apoderado

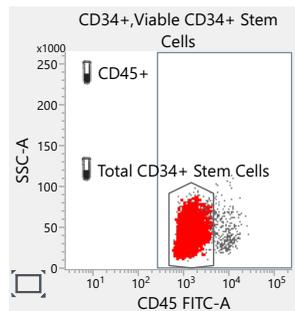
6. Gráfico 5:



7. Gráfico 6:

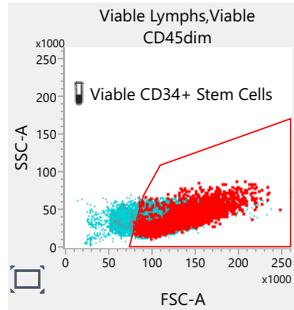


8. Gráfico 7:




ARTEMAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
Co-Director Técnico - Apodetrado

9. Gráfico 8:

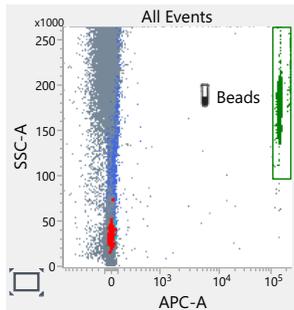


Ejemplo de definición de las áreas de selección: muestra de sangre de cordón (fresca)

En esta sección se muestra la estrategia de definición de las áreas de selección para una muestra de sangre de cordón fresca. No se ajustó manualmente ninguna de las áreas de selección del ejemplo.

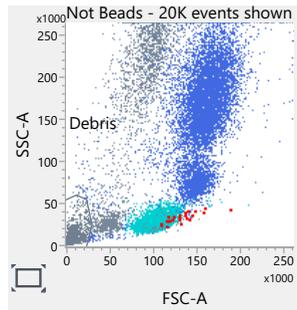
Revise los gráficos de puntos del informe de laboratorio en el orden que se indica a continuación.

1. Gráfico 9:

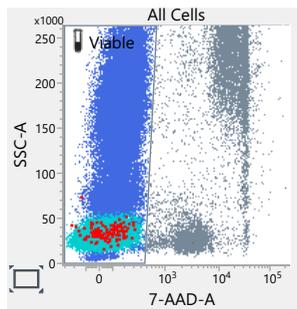


[Handwritten Signature]
FRATEGAN ZORZOLI
 Farmacólogo - M.N. 19843
 Co-Director Técnico - Apoderado

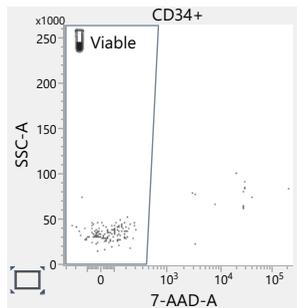
2. Gráfico 1:



3. Gráfico 3:

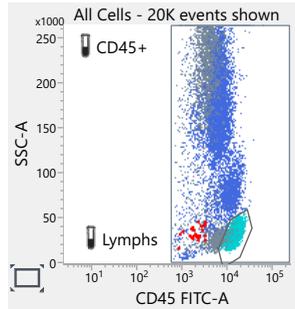


4. Gráfico 2:

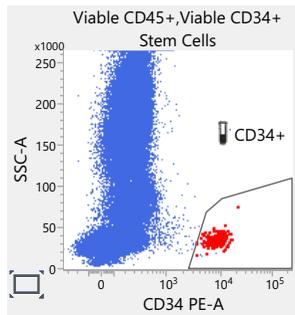



ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
CoDirector Técnico - Apoderado

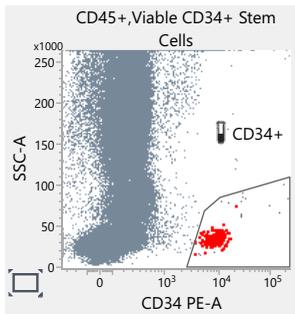
5. Gráfico 4:



6. Gráfico 5:

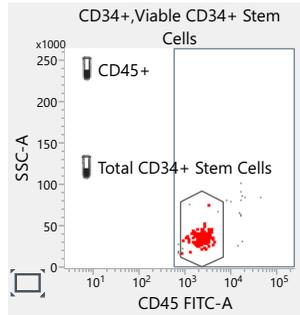


7. Gráfico 6:

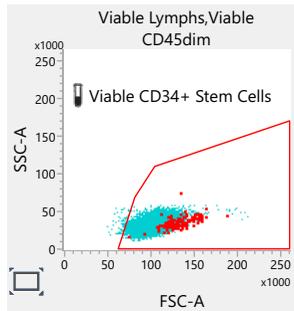



ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 19843
Co-Director Técnico - Apoditrado

8. Gráfico 7:



9. Gráfico 8:



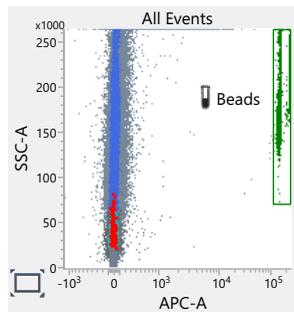

ESTERIANI ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
Co-Director Técnico - Aprobado

Ejemplo de definición de las áreas de selección: muestra de sangre de cordón (tras la descongelación)

En esta sección se muestra la estrategia de definición de las áreas de selección para una muestra de sangre de cordón tras su descongelación. No se ajustó manualmente ninguna de las áreas de selección del ejemplo.

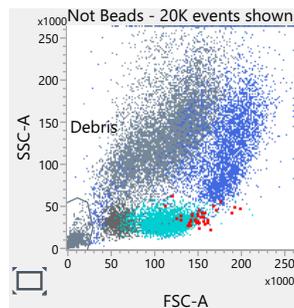
Revise los gráficos de puntos del informe de laboratorio en el orden que se indica a continuación.

1. Gráfico 9:

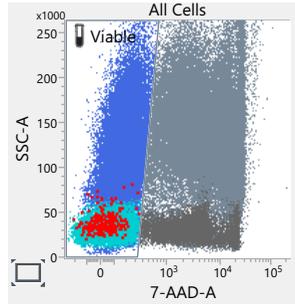


[Handwritten signature]
FRATELAN ZORZOLI
 Farmacéutico - M.N. 15643
 Co-Director Técnico - Aprobado

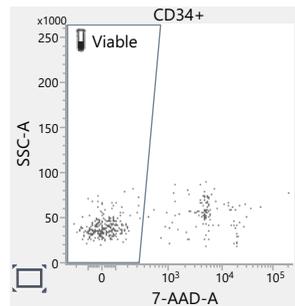
2. Gráfico 1:



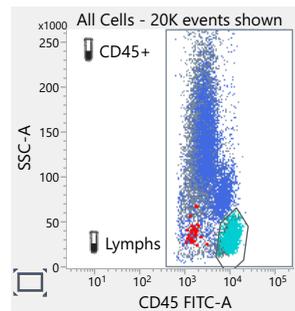
3. Gráfico 3:



4. Gráfico 2:

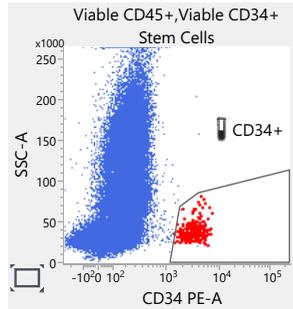


5. Gráfico 4:

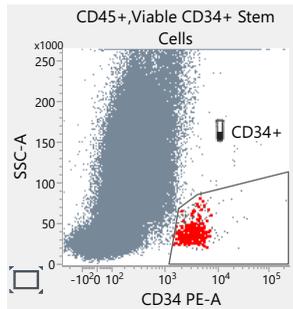



ARTUR ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15043
Co-Director Técnico - Apoderado

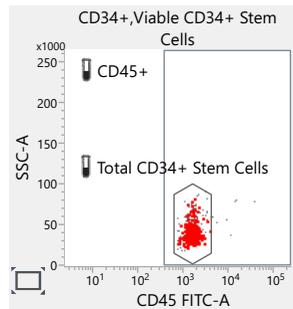
6. Gráfico 5:



7. Gráfico 6:

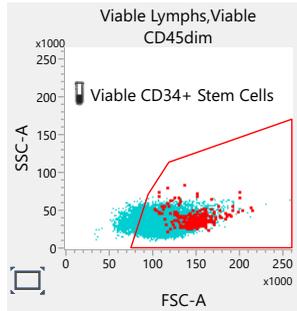


8. Gráfico 7:




ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
Co-Director Técnico - Apoderado

9. Gráfico 8:




ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.M. 15843
CoDirector Técnico - Apoderado

3

Solución de problemas

Este capítulo abarca los siguientes temas:

- Descripción general de la solución de problemas (página 62)
- Ningún resultado notificado (página 63)
- Resultados notificados incompletos (página 65)
- La ubicación del área de selección es sospechosa, pero se han notificado todos los resultados (página 66)
- Número insuficiente de eventos recopilados, pero se han notificado todos los resultados (página 68)
- Advertencias generales (página 69)
- Anticoagulante heparina (página 72)



ETECAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 19843
Co-Director Técnico - Aprobado

Descripción general de la solución de problemas

En este capítulo se enumeran los problemas que pueden surgir al utilizar el BD[®] Stem Cell Enumeration Kit, y los mensajes de control de calidad que se pueden generar, acompañados de las soluciones recomendadas.

Información adicional sobre la solución de problemas

El *BD FACSLyric[™] Clinical Reference System* (Sistema de referencia clínica de BD FACSLyric[™]) contiene información adicional sobre la solución de problemas que abarca el citómetro, la calibración y el control de calidad, los mensajes de control de calidad del software y la solución de problemas generales del software. Las Instrucciones de uso de *BD[®] Stem Cell Enumeration Kit* también incluyen información sobre solución de problemas relacionados con el reactivo y la tinción de muestras.

Si, tras leer las posibles causas y soluciones y consultar otras fuentes de información sobre solución de problemas, sigue teniendo preguntas, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de BD Biosciences. Para obtener información al respecto, consulte [Asistencia técnica \(página 7\)](#).



STEPHAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15043
Co-Director Técnico - Apodado

Ningún resultado notificado

Mensaje de control de calidad	Posible causa	Solución recomendada
Viable Gate Failed. Place gates manually. (Fallo de área de selección de células viables. Coloque las áreas de selección manualmente.)	Número insuficiente de células viables en la muestra porque todas las células están muertas.	Repita la tinción y, a continuación, adquiera la muestra recién teñida.
	Número insuficiente de células viables en la muestra porque se añadió 7-AAD a los controles de procesos.	Repita la tinción sin añadir 7-AAD a los controles de procesos y adquiera los controles de procesos recién teñidos. Consulte las Instrucciones de uso de BD [®] Stem Cell Enumeration Kit.
CD45 ⁺ Gate Failed. Place gates manually. (Fallo de área de selección de CD45 ⁺ . Coloque las áreas de selección manualmente.)	Número insuficiente de células CD45 ⁺ en la muestra.	Vuelva a definir manualmente el área de selección de la muestra. Si al volver a definir manualmente las áreas de selección no desaparece el error, repita la tinción y adquiera la muestra recién teñida.
Lymphs Gate Failed. Place gates manually. (Fallo de área de selección de linfocitos. Coloque las áreas de selección manualmente.)	Número insuficiente de linfocitos en la muestra.	Vuelva a definir manualmente el área de selección de la muestra. Si al volver a definir manualmente las áreas de selección no desaparece el error, repita la tinción y adquiera la muestra recién teñida.
	Población de linfocitos no resuelta.	Vuelva a definir manualmente el área de selección de la muestra. Si al volver a definir manualmente las áreas de selección no desaparece el error, repita la tinción y adquiera la muestra recién teñida.



ESTERIANI ZORZOLI
Farmacobiologo - M.N. 15643
Colorecchi Tecnico - Apodstrado

Mensaje de control de calidad	Posible causa	Solución recomendada
CD34 ⁺ Gate Failed. Place gates manually. (Fallo de área de selección de CD34 ⁺ . Coloque las áreas de selección manualmente.)	Número insuficiente de células CD34 ⁺ en la muestra.	Vuelva a definir manualmente el área de selección de la muestra. Si al volver a definir manualmente las áreas de selección no desaparece el error, repita la tinción y adquiera la muestra recién teñida.
Total CD34 ⁺ Stem Cell Gate Failed. Place gates manually. (Fallo de área de selección de células madre CD34 ⁺ totales. Coloque las áreas de selección manualmente.)	Número insuficiente de células madre CD34 ⁺ totales en la muestra.	Vuelva a definir manualmente el área de selección de la muestra. Si al volver a definir manualmente las áreas de selección no desaparece el error, repita la tinción y adquiera la muestra recién teñida.
Viable CD34 ⁺ Stem Cell Gate Failed. Place gates manually. (Fallo de área de selección de células madre CD34 ⁺ viables. Coloque las áreas de selección manualmente.)	Número insuficiente de células madre CD34 ⁺ viables en la muestra.	Vuelva a definir manualmente el área de selección de la muestra. Si al volver a definir manualmente las áreas de selección no desaparece el error, repita la tinción y adquiera la muestra recién teñida.



ESTEBAN ZORZOLI
 Farmacéutico - M.N. 15843
 Co-Director Técnico - Aprobado

Resultados notificados incompletos

Mensaje de control de calidad	Posible causa	Solución recomendada
Beads Gate Failed. Place gates manually. (Fallo de área de selección de microesferas. Coloque las áreas de selección manualmente.)	No se utilizó un BD Trucount™ Tube o faltaba el sedimento de microesferas en el tubo.	Repita la tinción con un nuevo BD Trucount™ Tube y, a continuación, adquiera la muestra recién teñida.
Beads gate does not contain requested 1,000 events (Área de selección de microesferas no contiene los 1000 eventos solicitados)	No se utilizó un BD Trucount™ Tube o faltaba el sedimento de microesferas en el tubo.	Repita la tinción con un nuevo BD Trucount™ Tube y, a continuación, adquiera la muestra recién teñida.



ARTECAN ZORZOLI
 Farmacéutico - M.N. 15643
 Co-Director Técnico - Aprobado

La ubicación del área de selección es sospechosa, pero se han notificado todos los resultados

Mensaje de control de calidad	Posible causa	Solución recomendada
Viable gate failed algorithm QC. Verify gate placement. (Fallo de CC de algoritmo de área de selección de células viables. Compruebe la posición del área de selección.)	Ubicación anómala del área de selección.	Vuelva a definir manualmente el área de selección de la muestra.
CD45 ⁺ gate failed algorithm QC. Verify gate placement. (Fallo de CC de algoritmo de área de selección de CD45 ⁺ . Compruebe la posición del área de selección.)	Ubicación anómala del área de selección.	Vuelva a definir manualmente el área de selección de la muestra.
Lymphs gate failed algorithm QC. Verify gate placement. (Fallo de CC de algoritmo de área de selección de linfocitos. Compruebe la posición del área de selección.)	Ubicación anómala del área de selección.	Vuelva a definir manualmente el área de selección de la muestra.
CD34 ⁺ gate failed algorithm QC. Verify gate placement. (Fallo de CC de algoritmo de área de selección de CD34 ⁺ . Compruebe la posición del área de selección.)	Ubicación anómala del área de selección.	Vuelva a definir manualmente el área de selección de la muestra.

Mensaje de control de calidad	Posible causa	Solución recomendada
<p>Total CD34⁺ Stem Cell gate failed algorithm QC. Verify gate placement. (Fallo de CC de algoritmo de área de selección de células madre CD34⁺ totales. Compruebe la posición del área de selección.)</p>	<p>Ubicación anómala del área de selección.</p>	<p>Vuelva a definir manualmente el área de selección de la muestra.</p>
<p>Viable CD34⁺ Stem Cell gate failed algorithm QC. Verify gate placement. (Fallo de CC de algoritmo de área de selección de células madre CD34⁺ viables. Compruebe la posición del área de selección.)</p>	<p>Ubicación anómala del área de selección.</p>	<p>Vuelva a definir manualmente el área de selección de la muestra.</p>
<p>Beads gate failed algorithm QC. Verify gate placement. (Fallo de CC de algoritmo de área de selección de microesferas. Compruebe la posición del área de selección.)</p>	<p>Ubicación anómala del área de selección.</p>	<p>Vuelva a definir manualmente el área de selección de la muestra.</p>
	<p>No se utilizó un BD Trucount™ Tube o faltaba el sedimento de microesferas en el tubo.</p>	<p>Repita la tinción con un nuevo BD Trucount™ Tube y, a continuación, adquiera la muestra recién teñida.</p>



IRTECAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
Co-Director Técnico - Apoderado

Número insuficiente de eventos recopilados, pero se han notificado todos los resultados

Mensaje de control de calidad	Posible causa	Solución recomendada
Viable CD45 ⁺ gate does not contain requested 75,000 events (Área de selección de CD45 ⁺ viables no contiene los 75 000 eventos solicitados)	Número insuficiente de células viables en la muestra. La adquisición ha superado el tiempo de espera tras 10 minutos.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Revise los gráficos y el informe de laboratorio. 2. Si fuera necesario, tiña y adquiera una nueva muestra.
	La muestra está demasiado diluida.	Use un factor de dilución menor, repita la tinción y, a continuación, adquiera la muestra recién teñida.
Viable CD34 ⁺ Stem Cells gate does not contain requested 125 events (Área de selección de células madre CD34 ⁺ viables no contiene los 125 eventos solicitados)	Recuento bajo de células CD34 ⁺ . La adquisición ha superado el tiempo de espera tras 10 minutos.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Revise los gráficos y el informe de laboratorio. 2. Si fuera necesario, tiña y adquiera una nueva muestra.
	Recuento bajo de células CD34 ⁺ . La adquisición ha superado el tiempo de espera antes de 10 minutos.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Revise los gráficos y el informe de laboratorio. 2. Si fuera necesario, tiña y adquiera una nueva muestra.
	Escasa diferenciación entre células CD34 ⁺ y otras células. La adquisición ha superado el tiempo de espera antes de 10 minutos.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Revise los gráficos y el informe de laboratorio. 2. Si fuera necesario, tiña y adquiera una nueva muestra.



STEFANI ZORZOLI
Farmacéutica - M.N. 15643
Co-Director Técnico - Apoderado

Advertencias generales

Mensaje de control de calidad	Posible causa	Solución recomendada
WBC count (cells/ μ L) value is X. Value must be $\leq 45,000$. (El valor del recuento de leucocitos (células/ μ l) es X. El valor debe ser $\leq 45\ 000$.)	El recuento de leucocitos es demasiado alto ($>45\ 000$ células/ μ l).	<ol style="list-style-type: none"> 1. Diluya la muestra. 2. Vuelva a teñir la muestra y adquiérala.
Acquired without completed Assay Setup (Adquirido sin calibración del ensayo finalizada)	La calibración del ensayo no se completó.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Repita la calibración del ensayo y de la configuración de tubos y verifique que el resultado de la calibración es correcto. 2. Vuelva a procesar la muestra.
Acquired with Assay Setup that passed with warnings. (Adquirido con calibración de ensayo aprobada con advertencias)	No se añadió 7-AAD al tubo.	Añada 7-AAD al tubo teñido con 7-AAD y repita la calibración del ensayo y de la configuración de tubos.
Acquired with failed Assay Setup. (Adquirido con calibración del ensayo fallida.)	No se añadió 7-AAD al tubo.	Añada 7-AAD al tubo teñido con 7-AAD y repita la calibración del ensayo y de la configuración de tubos.
Acquired with expired Assay Setup. (Adquirido con calibración del ensayo caducada.)	La calibración del ensayo con 7-AAD no se realizó.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Repita la calibración del ensayo y de la configuración de tubos y verifique que el resultado de la calibración es correcto. 2. Vuelva a procesar la muestra o tiña una nueva muestra y adquiérala.



ESTERIANI ZORZOLI
Farmacéutico - M.N. 15643
Co-Director Técnico - Apoderado

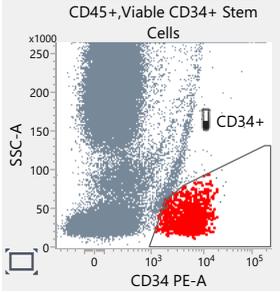
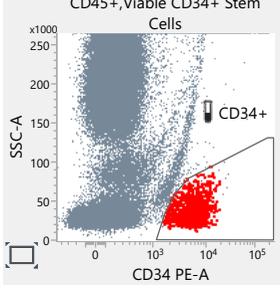
Mensaje de control de calidad	Posible causa	Solución recomendada
Acquired with expired Performance QC. (Adquirido con CC de funcionamiento caducado.)	No se ejecutó el control de calidad diario del funcionamiento.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Ejecute el control de calidad diario del funcionamiento y asegúrese de que lo supera. 2. Vuelva a procesar la muestra o tiña una nueva muestra y adquiérala.
Acquired with failed Performance QC. (Adquirido con CC de funcionamiento fallido.)	No se ha superado el control de calidad diario del funcionamiento.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Revise el informe de control de calidad y resuelva los problemas del instrumento. Consulte el <i>BD FACSLyric™ Clinical Reference System</i> (Sistema de referencia clínica de BD FACSLyric™). 2. Repita el control de calidad del funcionamiento. Vuelva a procesar la muestra o tiña una nueva muestra y adquiérala.
Acquired without completed Performance QC. (Adquirido sin CC de funcionamiento finalizado.)	No se completó el control de calidad diario del funcionamiento.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Revise el informe de control de calidad y resuelva los problemas del instrumento. Consulte el <i>BD FACSLyric™ Clinical Reference System</i> (Sistema de referencia clínica de BD FACSLyric™). 2. Repita el control de calidad del funcionamiento. Vuelva a procesar la muestra o tiña una nueva muestra y adquiérala.
Acquired with Performance QC that passed with warnings. (Adquirido con CC de funcionamiento aprobado con advertencias.)	Se ha aprobado el control de calidad diario del funcionamiento con advertencias.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Revise el informe de control de calidad y resuelva los problemas del instrumento. Consulte el <i>BD FACSLyric™ Clinical Reference System</i> (Sistema de referencia clínica de BD FACSLyric™). 2. Repita el control de calidad del funcionamiento. Vuelva a procesar la muestra o tiña una nueva muestra y adquiérala.

Mensaje de control de calidad	Posible causa	Solución recomendada
Acquired with expired reagent: BD Stem Cell Enumeration Kit. (Adquirido con reactivo caducado: BD Stem Cell Enumeration Kit.)	El reactivo BD [®] Stem Cell Enumeration ha caducado.	Vuelva a teñir la muestra con reactivo que no haya caducado y adquiera la muestra recién teñida.
Acquired with expired Trucount bead lot. (Adquirido con lote de microesferas Trucount caducado.)	El BD Trucount [™] Tube ha caducado.	Vuelva a teñir la muestra en un BD Trucount [™] Tube que no haya caducado y adquiera la muestra recién teñida.
Reference Settings were created with expired FC beads. (Configuración de referencia creada con microesferas FC caducadas.)	La configuración de referencia se actualizó con BD [®] FC Beads caducadas.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Actualice la configuración de referencia con BD[®] FC Beads que no hayan caducado. 2. Vuelva a procesar la muestra o tiña una nueva muestra y adquiérala.
Acquired with expired reference settings. (Adquirido con configuración de referencia caducada.)	La configuración de referencia ha caducado.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Actualice la configuración de referencia. 2. Vuelva a procesar la muestra o tiña una nueva muestra y adquiérala.
Acquired without defining spillover values. (Adquirido sin definición de valores de solapamiento.)	No se ha creado una configuración de referencia.	Cree una configuración de referencia con BD [®] FC Beads.



ESTEBAN ZORZOLI
Farmacéutico - M.M. 19643
Co-Director Técnico - Aportado

Anticoagulante heparina

Problema observado	Posible causa	Solución recomendada
Fanja de plaquetas.	Se ha recogido una muestra en anticoagulante heparina.	<ol style="list-style-type: none"> <li data-bbox="650 412 1139 496">1. En el gráfico 6, ajuste el límite izquierdo del área de selección de células CD34+ para excluir las plaquetas.  <ol style="list-style-type: none"> <li data-bbox="650 818 1139 935">2. Tras ajustar el área de selección, la población de células CD34+ no debería incluir eventos grises, los cuales representan la franja de plaquetas. 


ESTEBAN ZORZOLI
 Farmacéutico - M.N. 15043
 CoDirector Técnico - Aprobado

Información de contacto



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



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



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



STEFANO ZORZOLI
Farmacòutico - M.N. 15043
Co-Director Técnico - Apoderado



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
AÑO DE LA DEFENSA DE LA VIDA, LA LIBERTAD Y LA PROPIEDAD

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: rotulo y Manual de Instrucciones PM 634-612

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 127 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.06.25 23:52:58 -03:00

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.06.25 23:52:59 -03:00



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
AÑO DE LA DEFENSA DE LA VIDA, LA LIBERTAD Y LA PROPIEDAD

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-000101-23-9

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

Expediente N° 1-0047-3110-000101-23-9

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: Reactivos para citometria

Marca comercial: BD®, BD™

Modelos:

1. BD® Stem Cell Enumeration Kit
2. BD™ Stem Cell Control
3. BD® Stem Cell Enumeration Assay Module

Indicación/es de uso:

El BD® Stem Cell Enumeration Kit está diseñado para la enumeración de poblaciones de células madre hematopoyéticas CD45+/CD34+ dobles positivas viables con el objetivo de determinar los recuentos absolutos (células/µl) de células CD34+ viables, así como el porcentaje de células madre hematopoyéticas CD45+/CD34+ viables (% CD34) para contribuir a la evaluación de calidad de los productos celulares utilizados en el proceso de trasplante de células madre hematopoyéticas, que incluye la preparación y el trasplante de los productos celulares con un citómetro de flujo BD equipado con:

- un láser azul de 488 nm y un láser rojo de 640 nm
- capacidad para detectar dispersión frontal (FSC) y dispersión lateral (SSC)
- fluorescencia de al menos cuatro colores
- software para obtener y analizar los datos

Cuando se utiliza con un citómetro de flujo BD, se pueden analizar los siguientes productos celulares (muestras):

- sangre periférica normal y movilizada
- productos de leucoféresis frescos y descongelados
- médula ósea fresca y descongelada
- sangre de cordón fresca y descongelada

El BD® Stem Cell Enumeration Kit está diseñado exclusivamente para uso diagnóstico in vitro por profesionales de laboratorio.

El BD® Stem Cell Control está diseñado como sistema de control del proceso en dos niveles con valores cuantitativos asignados para su uso en el inmunofenotipaje mediante un citómetro de flujo BD. Se trata de un sistema de control para la tinción de anticuerpos, lisis de eritrocitos, calibración de instrumentos y análisis de datos si se utiliza junto con el BD® Stem Cell Enumeration Kit.

Forma de presentación: 1. El BD® Stem Cell Enumeration Kit es suficiente para 50 análisis. El kit contiene los siguientes componentes: BD® Stem Cell Reagent, 7-AAD, Solución de lisado de cloruro de amonio 10X., BD Trucount™ Tubes: Se incluyen dos bolsas, cada una con 25 tubos de un solo uso.

2. BD™ Stem Cell Control: dos viales x 2 ml

3. BD® Stem Cell Enumeration Assay Module: Por unidad.

Período de vida útil: 1) El reactivo BD® Stem Cell Enumeration Kit es estable por 24 (Veinticuatro) meses. Almacene el BD® Stem Cell Reagent (CD45/CD34) a una temperatura de 2–8° C. Conserve el reactivo 7-AAD a una temperatura de 2–8° C y protéjalo de la luz. 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. Use los tubos en el plazo de 1 hora después de extraerlos de la bolsa de papel de aluminio. Use el resto de los tubos en el plazo de 1 mes después de la apertura de la bolsa.

2) El reactivo BD™ Stem Cell Control es estable por 45 (cuarenta y cinco) días cuando se conserva entre 2 a 8° C.

Nombre del fabricante:

Para el BD® Stem Cell Enumeration Kit:

Fabricante legal:

1. Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences.
2. Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences.

Fabricante Real:

2. Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences.
3. Becton Dickinson Caribe, LTD.

Para el BD™ Stem Cell Control

Fabricante legal:

1. Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences.
2. Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences.

Fabricante Real:

4. R & D Systems, Inc.

Para el BD® Stem Cell Enumeration Assay Module:

1. Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences.
2. Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences.

Lugar de elaboración:

1. 155 North McCarthy Boulevard, Milpitas, CA 95035, Estados Unidos.
2. 2350 Qume Drive, San José, CA 95131, Estados Unidos.
3. Vicks Drive, Lot 1 Corner Road 735, Cayey, 00736, Puerto Rico, Estados Unidos.
4. 614 McKinley PL, N.E. Minneapolis, MN 55413, Estados Unidos.

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 634-612 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

N° 1-0047-3110-000101-23-9

N° Identificador Trámite: 45396

AM

Digitally signed by PEARSON Enriqueta María
Date: 2024.06.28 18:06:50 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.06.28 18:06:51 -03:00