

Rótulos Internos

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

BD® HLA-B27 Kit Anti-HLA-B27/CD3



BD® HLA-B27 Kit Calibration Beads



BD® HLA-B27 BD FACS™ Lysing Solution




Rótulo Externo

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

 **BD HLA-B27 Kit** REF 340183

The rapid detection of HLA-B27 antigen requires the use of specific reagents. Components: Anti-HLA-B27 FITC/PC20 PE, BD FACSclick™ Typing Solution, and calibration beads for FITC. Not for use in tissue typing.

Para la detección rápida de la presencia del antígeno HLA-B27, debe usarse reactivos específicos. Componentes: Anti-HLA-B27 FITC/PC20 PE, solución de tipo BD FACSclick y beads de calibración para FITC. No usar para el tipaje de tejidos.

Para la detección rápida de la presencia del antígeno HLA-B27 se necesitan reactivos específicos. Componentes: Anti-HLA-B27 FITC/PC20 PE, solución de tipo BD FACSclick y microesferas de calibración para FITC. No usar para el tipaje de tejidos.



 **BD HLA-B27 Kit** REF 340183

Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences
155 North McCarthy Boulevard, Milpitas, California 95035, USA
BD, the BD Logo and FACSclick are trademarks of Becton, Dickinson and Company or its
affiliates. © 2013 BD. All rights reserved.

Made in USA
23.2009-07


STEFANO ZORZOLI
Milpitas, CA, USA
October 2013

Rótulo Externo

Becton Dickinson and Company, BD Biosciences. 2350 QUME Drive, San José, CA 95131, Estados Unidos.

 **BD HLA-B27 Kit** REF 340183

The rapid detection of HLA-B27 antigen expression in peripheral blood (Serotype Ase-HLA-B27 10101220-00, B27K27™) using Solistix™ and antibodies raised for HLA-B27. Not for use in tissue typing.

Para la detección rápida del antígeno del Polígrafo HLA-B27 para la sang total poro. Anticuerpos para: Contorno: Ase-HLA-B27 10101220-00, Anticuerpo de que B27K27™ se fabrica de HLA-B27. No para otros usos de tipaje de tejido.

Para la detección rápida de la expresión del antígeno HLA-B27 en suero total o en eritrocitos leucos. Componente Ase-HLA-B27 10101220-00, anticuerpo B27K27™ se fabrica de HLA-B27. No para otros usos de tipaje de tejido.



 **BD HLA-B27 Kit** REF 340183

Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences
2350 Qume Drive, San José, CA 95131, USA
BD, the BD Logo and HLA-B27 are trademarks of Becton, Dickinson and Company or its affiliates. © 2011 BD. All rights reserved.

Made in USA
03 004-07



ESTEBAN ZUNZOLI
E. Zunzoli, S. N. 1945
Quilicura, Santiago, Chile

Sobre rótulo

Becton Dickinson Argentina SRL

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

Teléfono: 0800-444-5523

E-mail: crc_argentina@bd.com

Directora Técnica: Paula Rao, Farmacéutica MN N° 17.813

USO PROFESIONAL EXCLUSIVO

Autorizado por la ANMAT N° PM 634-651



GABRIELA ZURZOLI
Farmacéutica - M.N. 10865
Código de Ética: 10/0000000

1. USO PREVISTO

El sistema BD® HLA-B27 es un método cualitativo de inmunofluorescencia directa de dos colores para la detección rápida de la expresión del antígeno HLA-B27 en sangre completa con eritrocitos lisados (LWB) con los citómetros de flujo BD FACSVia™, BD FACSCanto™, BD FACSCalibur™, BD FACSort™ o BD FACScan™.

No se debe utilizar para la tipificación de tejidos.

2. RESUMEN Y EXPLICACIÓN

HLA-B27 es una molécula de clase I del complejo de histocompatibilidad principal (CHP). Las moléculas de clase I del CHP son glucoproteínas de la superficie celular que se expresan en la mayoría de las plaquetas y células humanas nucleadas.¹

La presencia del antígeno HLA-B27 está estrechamente ligada a la espondilitis anquilosante (EA), una enfermedad inflamatoria crónica del sistema locomotor axial, y a algunos otros trastornos reumáticos (síndrome de Reiter, uveítis anterior aguda y enteropatía inflamatoria).² Los análisis de HLA-B27 se utilizan de forma rutinaria para detectar EA, ya que el 90 % de los pacientes con EA tienen el antígeno de superficie HLA-B27, en comparación con solo el 8 % de los individuos sanos.³

3. PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Preparación celular

Cuando el reactivo de anticuerpos monoclonales Anti-HLA-B27 FITC/CD3 PE se añade a sangre completa humana, los anticuerpos marcados con fluorocromo se unen específicamente a los antígenos de superficie de los leucocitos. Las muestras teñidas se tratan con BD® HLA-B27 BD FACS™ Lysing Solution para lisar los eritrocitos y, a continuación, se lavan y se fijan antes del análisis por citometría de flujo.

Calibración del citómetro de flujo

En esta sección, se proporcionan directrices para calibrar los citómetros de BD que requieren calibración.

La calibración de todos los citómetros de flujo de la familia BD FACSCanto™ se lleva a cabo con BD FACSTM 7-Color Setup Beads y BD FACSCanto™ Clinical Software. El citómetro de flujo BD FACSCalibur™ se calibra inicialmente con BD Calibrite™ Beads y el software BD FACSComp™.

El voltaje del detector FITC/FL1 se ajusta específicamente para el ensayo utilizando HLA-B27 Calibration Beads. El sufijo del vial de microesferas es el valor objetivo, en unidades de logaritmo de la mediana de fluorescencia (LMF) para escala completa de 256 canales. **El sufijo debe introducirse correctamente en el software; de lo contrario, los resultados pueden ser incorrectos.** A continuación, el software ajusta el voltaje del detector hasta que la microesfera alcanza el valor objetivo de LMF. Solo en el caso del instrumento BD FACSCalibur™, la microesfera se usa además para establecer la ganancia de FSC. El software apropiado genera los informes correspondientes para confirmar que la calibración es correcta.

No es necesario calibrar el citómetro de flujo BD FACSVia™, ya que las definiciones de análisis para cada ensayo definen los ajustes predeterminados de adquisición y área de selección. Sin embargo, para realizar el análisis BD® HLA-B27, se deben realizar el control de calidad del instrumento y la calibración de BD® HLA-B27. Para obtener instrucciones sobre el control de calidad del instrumento en este citómetro, consulte las *Instrucciones de uso del sistema BD FACSVia™*. Para obtener instrucciones para realizar el análisis BD® HLA-B27, consulte la *Guía de aplicación de BD® HLA-B27 para el sistema BD FACSVia™*.

En la [Figura 1](#) se muestra el informe Application Setup Report de los citómetros de flujo de la familia BD FACSCanto™. En la [Figura 2](#) se muestra el informe HLA-B27 Calibration Report del instrumento BD FACSCalibur™. En la [Figura 3](#) se muestra el informe HLA-B27 Setup Report del instrumento BD FACSVia™.

Adquisición de las muestras

En esta sección y la siguiente, se proporcionan instrucciones para la adquisición y el análisis de las muestras con BD FACSCanto™ Clinical Software en citómetros de flujo de la familia BD FACSCanto™, con el software BD® HLA-B27 en el citómetro de flujo BD FACSCalibur™ o con el software clínico BD FACSVia™ en el citómetro de flujo BD FACSVia™. Para obtener instrucciones sobre la adquisición de muestras con otros citómetros, consulte las instrucciones de uso correspondientes.

Se adquieren aproximadamente 15 000 eventos totales o 2000 linfocitos T.

Análisis de muestras

El software de adquisición analiza automáticamente la muestra adquirida. Los linfocitos T se incluyen en áreas de selección en los gráficos de puntos de CD3 PE (detector PE o FL2) frente a dispersión lateral ([Figura 4](#), [Figura 5](#) y [Figura 6](#)). La población de linfocitos T se muestra en un histograma FITC/FL1 ([Figura 4](#), [Figura 5](#) y [Figura 6](#)), donde se calcula el LMF. Las muestras con un LMF superior o igual al marcador de decisión deben considerarse positivas para HLA-B27 (consulte [Resultados](#) para obtener información detallada) y las muestras con un LMF inferior al marcador



deben considerarse negativas para HLA-B27. El marcador de decisión está definido por el sufijo del vial del reactivo HLA-B27 FITC/CD3 PE. El sufijo se expresa en unidades de LMF y debe introducirse correctamente en el software antes de la adquisición de la muestra; de lo contrario, los resultados pueden ser incorrectos.

Figura 1 Ejemplo de informe HLA-B27 Setup Report del BD FACSCanto™ Clinical Software en el sistema BD FACSCanto™

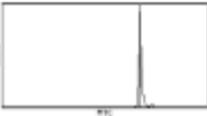
Application Setup Report
HLA-B27

Cytometer: BD FACSCanto	Installation:
Serial Number: 402400004	Operator: BD
Software: BD FACSCanto v2.0	Overall Result: PASS
Date: 06/27/2008 1:13:46 PM	

Cytometer Setup
Cytometer Setup Report: 05/27/2008 11:43 PM, Overall Result: PASS
Bead Product: BD FACSCanto 7-Color Setup Beads, Catalog Number: 320170
Lot Information: Lot ID 31842, Exp: 2005-11-30

HLA-B27 Setup
HLA-B27 Bead Lot ID: 06094/143, HLA-B27 Reagent Lot ID: 17018/144

FITC Histogram
FITC Average: 310, Stdev: 149-142, PM: PASS



Detection

Detector	Laser	Voltage
FSC	Blue	125
SSC	Blue	420
FITC	Blue	581
PC	Blue	480

Compensation

Detector	Fluorophore (Applied % spectral overlap)	PMG	spec: all values ≤ 100%
FITC	PE		
FITC	130.40	8.42	
PE	33.09	103.08	

Threshold

Detector	Value
FSC	23600

Comments

Reviewed By: _____


SEBASTIAN ZURZOLI
 Application Specialist - 10111, 10845
 Application Specialist - 10111, 10845

Figura 3 Ejemplo de informe HLA-B27 Setup Report del software clínico BD FACSVia™ en el sistema BD FACSVia™

ID: HLA-B27 Setup

Report Date: OCT 07, 2015 14:10:07

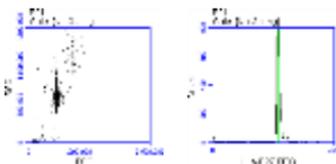
BD FACSVia Serial #: Demo Serial
BD FACSVia Software Version: 1.0

Result: **Successful**

Date Acquired	OCT 07, 2015 14:09:52	Operator	
Setup Bead Lot	4090508	Lab Director	LJO
Expiration Date	APR 30, 2016		
Setup Bead Suffix	138		
Reagent Lot	4107738		
Expiration Date	NOV 30, 2015		
Reagent Suffix	150		

Setup Report File Name: C:\Users\Public\Documents\BD Accuri Files\HLA-B27 Setup Reports\HLA-B27 Setup_20151007_140952.pdf

HLA-B27 Setup



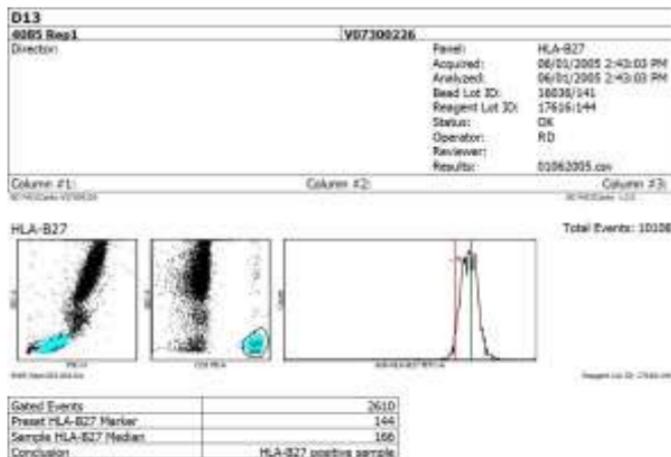
	Result
Setup Bead Suffix	138
Setup Bead Median	138

QC Messages

Comments:

STEFANO JURZOLI
LABORATORY MANAGER
BD FACSVia

Figura 4 Ejemplo de informe HLA-B27 Laboratory Report del BD FACSCanto™ Clinical Software en el sistema BD FACSCanto™



QC Messages

No quality control messages generated.

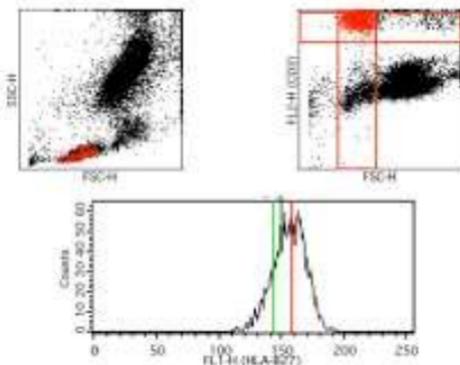
Comments


STEFANO JURZOLI
 Laboratorio - 0111 - 0843
 Cattedra di Immunologia (Spinali)

Figura 5 Ejemplo de informe HLA-B27 Laboratory Report del software BD® HLA-B27 en el sistema BD FACSCalibur™

BD
HLA-B27 Laboratory Report

Director:	CW	Cytometer:	FACSCalibur (E0344)
Clinical:	RES	Software:	HLA-B27 v4.0
Sample Name:	HLA42T0056L0		
Sample ID:	P50302		
Date Acquired:	Fri, Jul 15, 2005 7:39 PM		
Date Analyzed:	Fri, Jul 15, 2005 7:59 PM		
Data File Name:	HLA42T0056L0302.01		
Lab Report Name:	HLA42T0056L0302.01		
Bead Lot ID:	18036141		
Reagent Lot ID:	17616-144		
Events Acquired:	15000		
Gate(s) Used:	1731		
Pre-set FL1 Marker:	144	Sample FL1 Median:	158
Conclusion:	HLA-B27 positive sample		



Comments:


STEFANO ZURZOLI
 Direttore - 10.11.10843
 Ospedale Civile - Ospedale

Figura 6 Ejemplo de informe HLA-B27 Laboratory Report del software clínico BD FACSVia™ en el sistema BD FACSVia™

ID: 9983514

Report Date: JUN 24, 2015 13:28:58

BD FACSVia Serial #: Demo Serial
BD FACSVia Software Version: 1.0

Name: Craft, A

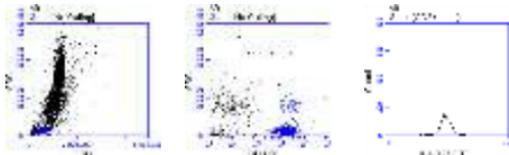
Case #: C566

Date Acquired | JUN 24, 2015 13:26:46

Operator | PJT
Prep | OD
Tube Rack |
Lab Director | LJO

BD FACSVia File Name: C:\Users\Public\Documents\BD Accuri Files\FACSVia Workspaces\HLA-B27_0624.cs

HLA-B27

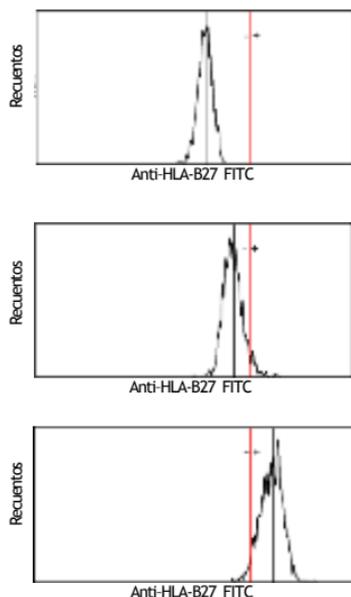


	Result
Total events	23316
CD3+ events	2238
CD3+ Percent of total events	9.60%
Decision Marker/Reagent Suffix	140
Sample Median	120
Conclusion	Negative

QC Messages

En la [Figura 7](#) se muestran ejemplos de una muestra positiva para HLA-B27 (histograma inferior) y muestras negativas para HLA-B27 (histogramas superior y central). La muestra del histograma central también es negativa porque el LMF es inferior al marcador de decisión, pero es más brillante que la muestra del histograma superior. Ello se debe a que el anticuerpo Anti-HLA-B27-FITC muestra cierta reactividad cruzada con algunos otros tipos de HLA; en concreto, HLA-B7.4.5

Figura 7 Ejemplos de muestras negativas para HLA-B27 (histogramas superior y central) y muestra positiva para HLA-B27 (histograma inferior)



4. REACTIVOS

Reactivos suministrados

Suficiente para 50 análisis

El BD® HLA-B27 Kit consta de un frasco que contiene una combinación de anticuerpos monoclonales murinos, Anti-HLA-B27 conjugado con FITC y CD3 conjugado con PE; un frasco de concentrado de BD® HLA-B27 BD FACS™ Lysing Solution 10X, y un frasco de BD® HLA-B27 Kit Calibration Beads suficiente para 10 calibraciones.

Reactivo A, BD® HLA-B27 Kit Anti-HLA-B27/CD3

El reactivo A (suficiente para 50 análisis) se suministra en 1,5 ml de solución salina tamponada con gelatina y azida sódica al 0,1 %. Contiene Anti-HLA-B27 marcado con FITC, clon GS145.2 (IgG₁, kappa),⁶ para la identificación del antígeno HLA-B27, y CD3 marcado con PE, clon SK7 (IgG₁, kappa),⁷⁻¹⁰ para la identificación de linfocitos T. Consérvelo a 2-8 °C.

Reactivo B: BD® HLA-B27 BD FACS™ Lysing Solution

El reactivo B (30 ml) contiene BD® HLA-B27 BD FACS™ Lysing Solution tamponada 10X con menos del 50 % de dietilenglicol y menos del 9,77 % de formaldehído. Consérvelo a 2–25 °C.

Para usarlo, diluya a 1:10 con agua apta para reactivos a temperatura ambiente (20–25 °C). Si se almacena en un recipiente de vidrio o de polietileno de alta densidad (HDPE) a temperatura ambiente, la solución preparada se mantendrá estable durante 1 mes.

Reactivo C, BD® HLA-B27 Kit Calibration Beads

El reactivo C (suficiente para 10 calibraciones) se suministra en 1,5 ml de solución salina tamponada con Tween® 20, gelatina y azida sódica al 0,1 %. Las microesferas se utilizan para calibrar el citómetro específicamente para el análisis de HLA-B27. Consérvelo a 2–8 °C.

Las concentraciones se muestran en la tabla siguiente:

Reactivo	Concentración
CD3	4,2 µg/ml
HLA-B27	5,0 µg/ml
Microesferas de calibración	2,00 × 10 ⁷ microesferas/ml

Precauciones

PRECAUCIÓN La ley federal restringe la venta de este dispositivo a profesionales certificados.

PRECAUCIÓN El usuario no debe cambiar manualmente ninguno de los parámetros del instrumento una vez que se hayan fijado de acuerdo con los procedimientos de calibración. Consulte la información que figura en [Citometría de flujo](#).

- Para uso diagnóstico in vitro.
- No se debe utilizar para la tipificación de tejidos.
- Si se almacenan a 2–8 °C, los reactivos se mantienen estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. No se deben utilizar después de la fecha de caducidad.
- Los reactivos no deben congelarse ni exponerse a la luz directa durante el almacenamiento o la incubación con células. Mantenga secos los frascos de los reactivos.
- Realice la tinción dentro de los plazos que se especifican en [Recogida y preparación de muestras](#). Antes de la tinción, conserve la sangre a temperatura ambiente (20–25 °C). No use células previamente fijadas. Si se utilizan temperaturas o tiempos de incubación distintos de los especificados, pueden producirse errores en los resultados. Las muestras de sangre refrigeradas antes de su tinción pueden dar resultados anómalos.



- Para obtener resultados óptimos, analice las muestras teñidas en las 24 horas siguientes a la tinción.
- Cualquier alteración en el aspecto de los reactivos, como precipitación o decoloración, es un indicio de inestabilidad o deterioro. En ese caso, no utilice los reactivos.
- El reactivo de anticuerpo y las microesferas de calibración contienen azida sódica como conservante; sin embargo, es preciso extremar las precauciones para evitar la contaminación microbiana, que podría causar resultados erróneos.
- El reactivo B contiene 31,45 % de 2,2'-oxibis-etanol (dietilenglicol), número CAS 111-46-6, número CE 203-872-2, número CE 200-659-6; 9,77 % de formaldehído, número CAS 50-00-0, número CE 200-001-8; y 3,43 % de metanol, número CAS 67-56-1. La solución de lisado se clasifica como peligrosa según el Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos (SGA). Visite regdocs.bd.com para descargar la ficha de datos de seguridad.

	Peligro
	<p>H302+H312+H332: Nocivo en caso de ingestión, contacto con la piel o inhalación.</p> <p>H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.</p> <p>H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.</p> <p>H335: Puede irritar las vías respiratorias.</p> <p>H341: Se sospecha que provoca defectos genéticos.</p> <p>H350: Puede provocar cáncer.</p> <p>H370: Provoca daños en los órganos.</p> <p>H373: Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas.</p> <p>Solo EE. UU.: H402: Nocivo para los organismos acuáticos.</p>
Prevencción	<p>P201: Solicitar instrucciones especiales antes del uso.</p> <p>P202: No manipular la sustancia antes de haber leído y comprendido todas las instrucciones de seguridad.</p> <p>P260: No respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.</p> <p>P264: Lavarse bien la cara, las manos y la piel expuesta después de la manipulación.</p> <p>P270: No comer, beber ni fumar durante su utilización.</p> <p>P271: Utilizar únicamente en exteriores o en un lugar bien ventilado.</p> <p>P272: Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo.</p> <p>P273: Evitar su liberación al medio ambiente.</p> <p>P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.</p>



Respuesta	<p>P301+P330+P331: EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagarse la boca. NO provocar el vómito.</p> <p>P312: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un me?dico si la persona se encuentra mal.</p> <p>P303+P361+P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua o ducharse.</p> <p>P363: Lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas.</p> <p>P333+P313: En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.</p> <p>P304+P340: EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración.</p> <p>P310: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico.</p> <p>P305+P351+P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.</p> <p>P307+P311: EN CASO DE exposición: Llame a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico.</p> <p>P308+P313: EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Consultar a un médico.</p>
Conservación	P405: Guardar bajo llave.
Eliminación	P501: Eliminar el contenido/el recipiente en una planta aprobada de acuerdo con las reglamentaciones locales, regionales, nacionales e internacionales.

- 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^{11,12} y desecharse respetando las precauciones adecuadas de acuerdo con la normativa federal, estatal y local vigente. Nunca pipetee con la boca. Utilice ropa protectora, protección ocular y guantes adecuados.
- Los análisis han demostrado que la expresión de HLA-B27 disminuye con el tiempo en tubos de recogida de sangre con solución B de ácido citrato dextrosa (ACD-B). Esta disminución puede conllevar resultados incorrectos y, por lo tanto, no se recomienda usar tubos ACD-B para la recogida de muestras.

Conservación y manipulación

- Conserve el reactivo A y el reactivo C en posición vertical a 2–8 °C. No utilice el producto después de la fecha de caducidad que figura en la etiqueta.
- Conserve el reactivo B, sin diluir, a 2–25 °C. Una vez diluido, se puede conservar a temperatura ambiente (20–25 °C) durante un mes como máximo.
- No congele los reactivos ni los exponga a la luz directa durante el almacenamiento o la incubación con células. Mantenga secos los frascos de los reactivos.

5. INSTRUMENTO

Para obtener información de uso detallada, consulte la documentación específica del producto.

Sistema BD FACSVia™

- Citómetro de flujo BD FACSVia™
- Software clínico BD FACSVia™ versión 2.0 o posterior



- Módulo del ensayo BD® HLA-B27 (definición de análisis)

Sistema BD FACSCanto™ o BD FACSCanto™ II

- Familia de citómetros de flujo BD FACSCanto™
- BD FACSCanto™ Clinical Software
- Módulo de la aplicación BD® HLA-B27

Sistema BD FACSCalibur™

- Citómetro de flujo BD FACSCalibur™
- Sistema de gestión de datos BD FACStation™ (incluido en el sistema BD FACSCalibur™)
- Software BD® HLA-B27
- Software BD FACSComp™

Todas las características de rendimiento se obtuvieron utilizando estos instrumentos y sistemas de software. Otros sistemas pueden tener características diferentes.

6. RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Recoja la sangre de forma aséptica por venopunción, utilizando BD Vacutainer® Blood Collection Tubes.¹³ Se requiere un mínimo de 1 ml de sangre completa para este procedimiento.

La sangre extraída en tubos de recogida de sangre con EDTA, heparina o solución ACD A (ACD-A) puede conservarse a temperatura ambiente (20–25 °C) durante un máximo de 48 horas hasta que esté lista para la tinción. Una vez teñidas, las muestras permanecen estables durante un máximo de 24 horas a una temperatura de 2–8 °C.

Condiciones que causan interferencias

No use células previamente fijadas y almacenadas. Las muestras de leucocitos o de sangre completa refrigeradas antes de la tinción pueden dar resultados anómalos. Las muestras hemolizadas o con menos de 1 ml de sangre completa en el tubo de recogida deben rechazarse.

7. PROCEDIMIENTO

Reactivos suministrados

Consulte [Reactivos suministrados](#) y [Precauciones](#) en la [Sección 4, Reactivos](#).

Reactivos y materiales necesarios pero no suministrados

- BD Vacutainer® EDTA Blood Collection Tubes o equivalentes
- Tubos de análisis de poliestireno desechables Falcon® de 12 x 75 mm o equivalentes
- Agitador vortical
- Centrífuga de baja velocidad (velocidad mínima 200 g) con rotor de cesto giratorio y soportes para tubos de 12 x 75 mm
- Aspirador de vacío con depósito
- Micropipeta con puntas

- Solución salina tamponada con fosfato (PBS) 1X
- BD® CellWASH (n.º de catálogo 349524) o un tampón de lavado de solución salina tamponada con fosfato (PBS) con azida sódica al 0,1 %

NOTA La solución BD® CellWASH no está disponible en todos los mercados.

- BD CellFIX™ (n.º de catálogo 340181) o una solución de paraformaldehído al 1 % en PBS con azida sódica al 0,1 %

Consérvelos a 2–8 °C en un recipiente de vidrio ámbar durante un máximo de 1 semana.

NOTA La solución BD CellFIX™ no está disponible en todos los mercados.

- Agua apta para reactivos (destilada y desionizada)
- BD FACSTFlow™ Sheath Fluid (n.º de catálogo 342003) o equivalente

PRECAUCIÓN En los citómetros de flujo que no sean BD FACSVia™, utilice únicamente BD FACSTFlow™ Sheath Fluid para diluir HLA-B27 Calibration Beads.

PRECAUCIÓN En los citómetros de flujo BD FACSVia™, utilice únicamente PBS 1X para diluir HLA-B27 Calibration Beads.

- Agua desionizada con BD® Sheath Additive (n.º de catálogo 660584) para el líquido de recubrimiento en el citómetro de flujo BD FACSVia™. Para conocer las directrices, consulte las instrucciones de uso
- Para el sistema BD FACSCanto™ o BD FACSCanto™ II: BD FACST™ 7-Color Setup Beads (n.º de catálogo 335775). Para conocer las instrucciones y advertencias, consulte las instrucciones de uso
- Para el sistema BD FACSCalibur™: BD Calibrite™ Beads (n.º de catálogo 349502 o 340486). Para conocer las instrucciones y advertencias, consulte las instrucciones de uso
- Para el sistema BD FACSVia™: BD® CS&T Beads (n.º de catálogo 656504 [50 análisis] o n.º de catálogo 656505 [150 análisis]). Para conocer las instrucciones y advertencias, consulte las instrucciones de uso

Tinción y fijación de las células

El siguiente procedimiento debe llevarse a cabo a temperatura ambiente (20–25 °C) utilizando reactivos a temperatura ambiente. Evite exponer los tubos a la luz directa. Consulte [Precauciones](#).

1. Para cada muestra, etiquete un tubo de 12 × 75 mm con el número de identificación de la muestra.
2. Pipetee 30 µl de reactivo A en el tubo.
3. Para cada tubo de muestra, utilice una punta de micropipeta nueva y dispense con cuidado 50 µl de sangre completa con anticoagulante bien mezclada en el fondo de cada tubo. La concentración de leucocitos recomendada es de 3,5 a $9,4 \times 10^3$ leucocitos/µl. Agite a conciencia en el agitador vorticial a baja velocidad



durante 3 segundos e incube durante 15–20 minutos en un lugar oscuro a temperatura ambiente (20–25 °C).

NOTA Proteja las muestras de la luz directa durante este procedimiento de incubación y tenga cuidado para evitar que se vierta sangre por el lateral del tubo. Si queda sangre completa en el lateral del tubo, no se teñirá con el reactivo.

4. Diluya BD® HLA-B27 BD FACS™ Lysing Solution 10X a 1X siguiendo las instrucciones que se especifican en la [Sección 4, Reactivos](#). Añada 2 ml de solución de lisado 1X a temperatura ambiente (20–25 °C) en cada tubo. Agite a conciencia inmediatamente en el agitador vorticial a baja velocidad durante 3 segundos e incube durante 10–12 minutos en un lugar oscuro a temperatura ambiente (20–25 °C). No incube durante más de 12 minutos.

PRECAUCIÓN Evite la exposición prolongada de las células a los reactivos líticos, ya que podría provocar la destrucción de leucocitos.

5. Inmediatamente después de la incubación, centrifugue los tubos a 300 *g* durante 5 minutos a temperatura ambiente (20–25 °C).
6. Aspire el sobrenadante, dejando aproximadamente 50 µl de líquido residual en el tubo para no afectar al sedimento celular.
7. Agite los tubos a conciencia en el agitador vorticial a baja velocidad para volver a suspender el sedimento celular en el líquido residual. Añada 2 ml de solución BD® CellWASH o PBS con azida sódica al 0,1 % a cada tubo. Agite a conciencia inmediatamente en el agitador vorticial a baja velocidad durante 3 segundos y centrifugue a 200 *g* durante 5 minutos a temperatura ambiente (20–25 °C).
8. Aspire el sobrenadante, dejando aproximadamente 50 µl de líquido residual en el tubo para no afectar al sedimento celular.
9. Agite el tubo a conciencia en el agitador vorticial a baja velocidad para volver a suspender el sedimento celular en el líquido residual. Añada 0,25 ml de solución BD CellFIX™ o paraformaldehído al 1 % en PBS con azida sódica al 0,1 % a cada tubo y mezcle a conciencia en el agitador vorticial a baja velocidad durante 3 segundos. Compruebe que las células estén bien mezcladas con la solución fijadora. Fije las muestras durante 30 minutos antes de la adquisición.
10. Las muestras están ya listas para analizarse en el citómetro de flujo. Tape o cubra los tubos preparados y consérvelos a una temperatura de 2–8 °C en un lugar oscuro hasta el momento del análisis por citometría de flujo. Analice las células fijadas en las 24 horas siguientes a la tinción. Agite a conciencia las células en el agitador vorticial a baja velocidad para reducir la agregación antes de analizarlas en el citómetro de flujo.

Citometría de flujo

Consulte [Calibración del citómetro de flujo](#), así como las instrucciones de uso del instrumento y el software correspondientes para conocer las instrucciones específicas. Asegúrese de que el citómetro calibrado con BD Calibrite™ Beads, BD FACS™ 7-Color

Setup Beads o BD® CS&T Beads ha superado ese mismo día los criterios de control de calidad del instrumento antes de continuar con el procedimiento de calibración de HLA-B27.

Siga las instrucciones detalladas a continuación para el análisis por citometría de flujo. Además, consulte la [Sección 5, Instrumento](#).

Calibración de HLA-B27 para todos los instrumentos compatibles

La calibración de HLA-B27 debe llevarse a cabo todos los días que se procesen muestras. Prepare una alícuota nueva de HLA-B27 Calibration Beads cada vez que se lleve a cabo el siguiente procedimiento de calibración. Diluya las microesferas justo antes de la calibración.

1. Mezcle el frasco de HLA-B27 Calibration Beads con suavidad y a conciencia en el agitador vorticial.
2. Añada 2 gotas de microesferas a 1 ml de PBS 1X (para citómetros de flujo BD FACSVia™) o diluyente BD FACSTflow™ (para otros citómetros de flujo) en un tubo de ensayo de 12 × 75 mm.
3. Mezcle a conciencia la suspensión de microesferas en el agitador vorticial a baja velocidad durante 3 segundos.
4. Procese las microesferas con el software BD FACSComp™ en el citómetro de flujo BD FACSCalibur™, con el BD FACSCanto™ Clinical Software en los citómetros de flujo de la familia BD FACSCanto™ o desde la pestaña BD® HLA-B27 Setup (Calibración de BD HLA-B27) de la sección Instrument QC (Control de calidad del instrumento) del software clínico BD FACSVia™ en el citómetro de flujo BD FACSVia™.

Para poder continuar con la calibración, la frecuencia de eventos debe ser, como mínimo, de 400 eventos/s. Si es inferior a 400 eventos/s, añada otra gota de microesferas al tubo.

El software generará un informe para confirmar que la calibración es correcta (consulte la [Figura 1](#), la [Figura 2](#) y la [Figura 3](#)).

PRECAUCIÓN De no seguir el procedimiento completo de calibración del instrumento, pueden producirse resultados erróneos.

PRECAUCIÓN No cambie manualmente ninguno de los parámetros del instrumento una vez que se hayan fijado de acuerdo con estos procedimientos de calibración.

Adquisición y análisis de muestras

Adquiera todas las muestras en el citómetro de flujo. En el caso de los citómetros de flujo de la familia BD FACSCanto™, utilice el BD FACSCanto™ Clinical Software. Para el citómetro de flujo BD FACSCalibur™, adquiera los datos con el software BD® HLA-B27. A su vez, en el citómetro de flujo BD FACSVia™, utilice el software clínico BD FACSVia™. Consulte las instrucciones de uso del software correspondiente para obtener directrices detalladas. Tras la adquisición, cada software analiza



automáticamente la muestra y genera un informe de laboratorio en el que se facilita información detallada sobre el análisis y se indica si la muestra es positiva o negativa para HLA-B27.

Control de calidad

Para obtener resultados óptimos, BD exige utilizar el procedimiento de calibración descrito en los manuales enumerados a continuación:

- *BD® HLA-B27 Software Reference Manual* (Manual de referencia del software BD HLA-B27) (para el citómetro de flujo BD FACSCalibur™)
- *Guía de aplicación de BD® HLA-B27* (para los citómetros de flujo de la familia BD FACSCanto™)
- *Guía de aplicación de BD® HLA-B27* (para el sistema BD FACSVia™).

Se recomienda teñir las muestras de control conocidas positivas para HLA-B27 y negativas para HLA-B27 y procesarlas a modo de comprobación de calidad del sistema **cada vez** que se realice el análisis BD® HLA-B27. En la [Figura 7](#) se muestran ejemplos de resultados de sujetos positivos para HLA-B27 y negativos para HLA-B27.

BD FACSCanto™ Clinical Software y el software clínico BD FACSVia™ identifican eventos de linfocitos T CD3⁺. Debe haber una separación suficiente (según determine el software) entre las poblaciones positivas y negativas de CD3. Si el área de selección no se sitúa correctamente, aparecerá un mensaje de control de calidad. Consulte el manual del software correspondiente para obtener información.

Para los citómetros de flujo BD FACSCalibur™ o BD FACSVia™, el software correspondiente utiliza los siguientes criterios para evaluar los gráficos de puntos y el análisis de control de calidad de los datos.

- Como mínimo, el 2 % de todos los eventos deben ser linfocitos T (eventos FL2 brillantes) para que el software pueda situar el área de selección en el gráfico de puntos de FSC frente a FL2.
- Debe haber una separación suficiente (según determine el software) entre las poblaciones positivas y negativas de CD3.

Si estas condiciones no se cumplen, aparecerá un mensaje de error. Consulte [Solución de problemas](#) para obtener más información. Si no se cumplen los criterios de control de calidad, los resultados del análisis BD® HLA-B27 pueden ser sospechosos.

Inspeccione visualmente el gráfico de puntos de dispersión frente a CD3 PE (detector de PE/FL2) para asegurarse de que el área de selección de linfocitos T esté correctamente establecida.

8. RESULTADOS

Los sistemas de instrumentos BD muestran automáticamente los resultados de la expresión del antígeno HLA-B27 en la muestra, tal como se ilustra en la [Figura 4](#), la [Figura 5](#), la [Figura 6](#) y la [Figura 7](#). La muestra se señala como positiva o negativa para

HLA-B27. En el caso del sistema BD FACSVia™, los resultados también se pueden comunicar como no concluyentes.

9. LIMITACIONES

La información obtenida del análisis BD® HLA-B27 debe combinarse con otra información y someterse a la interpretación de un profesional de diagnóstico médico cualificado para establecer la presencia o ausencia de estados de enfermedad concretos.

Anti-HLA-B27 produce una reacción cruzada con algunos de los antígenos HLA-B, sobre todo con HLA-B7.^{4,5} El LMF de las muestras positivas para HLA-B7 en el detector FITC/FL1 puede estar, así, en el rango de muestras positivas para HLA-B27, lo que produce algunos resultados falsos positivos.

Inspeccione visualmente el gráfico de puntos de dispersión frente a CD3 PE para asegurarse de que el área de selección de linfocitos T esté correctamente establecida. Si el área de selección se ha establecido incorrectamente sobre la población de granulocitos, recomendamos volver a analizar la muestra.

Las características de rendimiento de este producto no se han establecido en muestras con recuentos de leucocitos fuera del rango normal del laboratorio participante. El rango recomendado de concentración de leucocitos es de 3,5 a 9,4 x 10³ leucocitos/μl.

10. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Sistema BD FACSVia™

Concordancia

Se realizó un estudio de concordancia entre los sistemas BD FACSVia™ y BD FACSCalibur™ en tres centros de investigación clínica. En el marco de este estudio, 597 muestras se compararon y analizaron en ambos sistemas ([Tabla 1](#)). La concordancia se calculó con la siguiente fórmula:

$$100 \% \times \frac{\text{(positivas en ambas plataformas + negativas en ambas plataformas + no concluyentes en FACSVia™ y zona gris en FACSCalibur™)}}{\text{(número total de muestras)}}$$

Tabla 1 Estudio de concordancia^a

Método de análisis (análisis BD® HLA-B27 en el sistema BD FACSVia™)	Método comparativo (BD® HLA-B27 en el sistema BD FACSCalibur™)			
	Positivas	Zona gris	Negativas	Total
Positivas	72	9	0	81
No concluyentes	3	11	3	17



Tabla 1 Estudio de concordancia^a

Negativas	0	0	499	499
Total	75	20	502	597

a. La concordancia global es del 97,5 %.

Precisión

Precisión intercentros de los citómetros de flujo BD FACSVia™

Se realizó un estudio de cinco días en tres centros (dos externos y uno de BD Biosciences) para evaluar la precisión intercentros a partir de dos donantes: uno positivo para HLA-B27 y otro negativo para HLA-B27. En el marco de este estudio, cinco réplicas de las muestras de sangre completa de los donantes se tiñeron con un lote de reactivo BD® HLA-B27 y, a continuación, se adquirieron una vez al día en un citómetro de flujo BD FACSVia™. En este estudio participaron uno o más usuarios en cada centro. Para cada una de las variables, se calculó la desviación estándar (DE) de la media de los valores de LMF de HLA-B27 FITC (consulte la [Tabla 2](#)).

Tabla 2 Precisión intercentros de BD FACSVia™

Tipo de donante	Precisión	Media de la mediana de la muestra	DE de la mediana de la muestra
Negativas	Repetibilidad	136	0,9
	Intercentro		1,2
	Reproducibilidad total		1,5
Positivas	Repetibilidad	173	0,9
	Intercentro		0,1
	Reproducibilidad total		0,9

Precisión intracentro de los citómetros de flujo BD FACSVia™

La precisión del sistema BD FACSVia™ se evaluó utilizando 42 muestras (21 positivas y 21 negativas para el antígeno HLA-B27). Las muestras se procesaron por duplicado durante 21 días, en dos ensayos cada día, utilizando tres usuarios y tres instrumentos. Para cada una de las variables, se calculó la desviación estándar (DE) de la media de las medianas de la muestra HLA-B27 FITC (consulte la [Tabla 3](#)).



Tabla 3 Precisión intracentro de BD FACSVia™

Tipo de donante	Precisión	Media de la mediana de la muestra	DE de la mediana de la muestra
Negativas	Repetibilidad	124	2,2
	Interserie		1,9
	Intracentro		2,9
Positivas	Repetibilidad	166	0,8
	Interserie		1,3
	Intracentro		1,5

Sistemas BD FACSCanto™ y BD FACSCanto™ II

Concordancia

Se realizó un estudio de concordancia entre los sistemas BD FACSCanto™ II y BD FACSCanto™ en las instalaciones de BD Biosciences. En el marco de este estudio, 125 muestras, cada una de ellas recogidas por duplicado, se analizaron en ambos sistemas (Tabla 4). La concordancia se calculó con la siguiente fórmula:

$$100\% \times \frac{(\text{positivas en ambas plataformas} + \text{negativas en ambas plataformas})}{(\text{número total de muestras})}$$

Tabla 4 Estudio de concordancia^{a,b}

Método de análisis (análisis BD® HLA-B27 en el sistema BD FACSCanto™ II)	Método comparativo (análisis BD® HLA-B27 en el sistema BD FACSCanto™)		
	Positivas	Negativas	Total
Positivas	54,5	0	54,5
Negativas	0	70,5	70,5
Total	54,5	70,5	125

- La concordancia global es del 100 %.
- Ambas réplicas de una muestra concuerdan en el análisis y los métodos comparativos, pero no concuerdan en el método mismo (una réplica positiva y una réplica negativa en cada sistema dentro de dos canales).

Se realizó un estudio de concordancia entre los sistemas BD FACSCanto™ y BD FACSCalibur™ en un laboratorio de referencia. En el marco de este estudio, se compararon 397 muestras, de las cuales 323 eran negativas para el antígeno HLA-B27 y 74 eran positivas (Tabla 5). No hubo muestras discordantes. La concordancia se calculó con la siguiente fórmula:

$$100\% \times \frac{(\text{positivas en ambas plataformas} + \text{negativas en ambas plataformas})}{(\text{número total de muestras})}$$

Tabla 5 Estudio de concordancia^{a,b}

Método de análisis (análisis BD® HLA-B27 en el sistema BD FACSCanto™)	Método comparativo (análisis BD® HLA-B27 en el sistema BD FACSCalibur™)		
	Positivas	Negativas	Total
Positivas	74	0	74
Negativas	0	323	323
Total	74	323	397

- a. La concordancia global es del 100 %.
 b. Resultados calculados basándose en el intervalo de confianza inferior del 95 % = concordancia del 99 %.

Precisión

La precisión del sistema BD FACSCanto™ II se calculó utilizando diez muestras: cinco positivas y cinco negativas para el antígeno HLA-B27. Las muestras se procesaron por duplicado durante dos días, en dos ensayos cada día, utilizando tres instrumentos y tres usuarios. Para cada una de las variables, se calculó la desviación estándar (DE) de la media de los valores de LMF de HLA-B27 FITC. Consulte [Tabla 6](#).

Tabla 6 Estudio de precisión global

Precisión	DE de LMF
Intraserie	0,62
Interserie	0,99
Interdiaria	0,54
Total del sistema	1,18

La precisión del sistema BD FACSCanto™ se calculó utilizando diez muestras: cinco positivas y cinco negativas para el antígeno HLA-B27. Las muestras se procesaron por duplicado durante dos días, en dos ensayos cada día, utilizando tres instrumentos BD FACSCanto™ y tres usuarios. Para cada una de las variables, se calculó la DE de la media de los valores de LMF de HLA-B27 FITC ([Tabla 7](#)).

Tabla 7 Estudio de precisión global

Precisión	DE de LMF
Intraserie	0,7
Interinstrumental	1,3

LABORATORIO DE INVESTIGACIONES
 CLINICAS Y DE DIAGNÓSTICO
 INSTITUTO VENEZOLANO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

Tabla 7 Estudio de precisión global

Precisión	DE de LMF
Interdiaria	0,8
Total del sistema	1,5

Caracterización de la reactividad cruzada

El anticuerpo Anti-HLA-B27, clon GS145.2, empleado en el análisis BD® HLA-B27, ha demostrado producir una reacción cruzada, sobre todo con HLA-B7⁴. La LMF de algunas muestras en las que se produce reacción cruzada puede incluirse en la parte positiva del marcador de decisión, lo que produce resultados falsos positivos³⁻⁵.

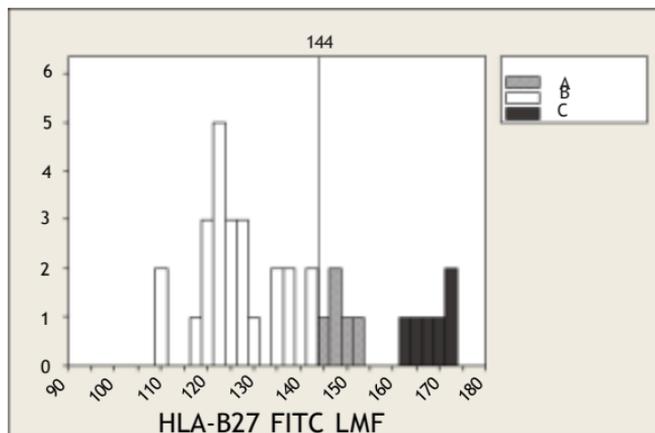
Se llevó a cabo un estudio para caracterizar esta reactividad cruzada. Cada uno de los tres usuarios tiñó por triplicado y adquirió en dos instrumentos BD FACSCanto™ 29 muestras con antígenos con reacción cruzada ante HLA-B conocida y 6 muestras positivas para HLA-B27 según los análisis de citotoxicidad o los análisis moleculares de baja resolución. Los resultados se presentan en la [Figura 8](#). Las seis muestras confirmadas como positivas para HLA-B27 estaban por encima del marcador de decisión. Las cinco muestras falsas positivas fueron predominantemente de HLA-B7, en consonancia con los estudios publicados⁴. De acuerdo con la población analizada, las muestras con reacción cruzada que se registraron en el lado positivo del marcador de decisión (canal 144 de LMF) tenían una LMF de entre 144 y 154 ([Figura 8](#)). Esta zona de diez canales también se justifica en las publicaciones actuales³. Esta zona es la que se denomina *zona gris* en los sistemas BD FACSCalibur™ y BD FACSCanto™. En los sistemas BD FACSVia™, las muestras que se registran en esta zona se rotulan como no concluyentes. Los resultados que se registran en esta zona deben confirmarse mediante un método alternativo.

La prevalencia y distribución de la reactividad cruzada del antígeno HLA-B pueden variar³⁻⁵. Es recomendable que los laboratorios confirmen esta zona gris (muestras no concluyentes) mediante la realización de sus propios estudios.



IREKAR JURJOLI
LABORATORIO DE HLA
SERVICIO DE HLA

Figura 8 Caracterización de la reactividad cruzada



Resultados	Descripción
A	Zona gris (no concluyente)
B	Negativo
C	Positivo

Sistema BD FACSCalibur™

El rendimiento del análisis BD® HLA-B27 en el sistema BD FACScan™ se estableció mediante análisis realizados en tres centros clínicos europeos y en los laboratorios de BD Biosciences de Erembodegem (Bélgica) y San José (California, EE. UU.). Un estudio interno demostró la equivalencia del sistema BD FACSCalibur™ con el sistema BD FACScan™.

Análisis BD® HLA-B27 frente a métodos comparativos

En estos estudios, se analizaron muestras de sangre completa lisada de 1418 sujetos, entre los que se incluían 258 sujetos positivos para HLA-B27, en el sistema BD FACScan™, utilizando el análisis BD® HLA-B27 y el método de microcitotoxicidad ([Tabla 8](#)). La concordancia se calculó con la siguiente fórmula:

$$100\% \times \frac{(\text{positivas en ambas plataformas} + \text{negativas en ambas plataformas})}{(\text{número total de muestras})}$$

Tabla 8 Análisis BD® HLA-B27 frente al método comparativo para la validación del marcador de HLA-B27^a

Método de análisis (análisis BD® HLA-B27 en el sistema BD FACScan™)	Método comparativo (método de microcitotoxicidad)		
	Positivas	Negativas	Total
Positivas	258	30	288
Negativas	0	1130	1130
Total	258	1160	1418

a. La concordancia global es del 97,9%.

Reproducibilidad intramuestral

Se obtuvieron muestras de sangre completa lisada de cada uno de cinco individuos positivos para HLA-B27, cinco positivos para HLA-B7/negativos para HLA-B27 y cinco negativos para HLA-B27/negativos para HLA-B7. Cada muestra se dividió en tres muestras parciales (alícuotas). Cada alícuota se tiñó con reactivo Anti-HLA-B27 FITC/CD3 PE y se lisó, lavó y fijó en las 6 horas siguientes a su recogida. Se llevó a cabo el análisis por citometría de flujo en un citómetro de flujo BD FACScan™ en las 8 horas siguientes a la tinción. La variabilidad intramuestral observada no alteró las determinaciones de la presencia o ausencia del antígeno HLA-B27. Los resultados demostraron una reproducibilidad intramuestral aceptable.

Reproducibilidad interinstrumental

Se obtuvieron muestras de sangre de dos sujetos positivos para HLA-B27 y dos negativos para HLA-B27, se dividieron en alícuotas (tres veces), se tiñeron con reactivo Anti-HLA-B27 FITC/CD3 PE y se lisaron, lavaron y fijaron en las 6 horas siguientes a la recogida de las muestras. Se llevó a cabo el análisis por citometría de flujo en tres citómetros de flujo BD FACScan™ en el mismo laboratorio en las 8 horas siguientes a la tinción. Los citómetros de flujo se configuraron empleando una dilución nueva de BD Calibrite™ Beads con el software AutoComp y se calibraron con una dilución nueva de HLA-B27 Calibration Beads para FL1 y el software BD® HLA-B27 antes de adquirir cada muestra teñida. No hubo diferencias interinstrumentales en la determinación de la presencia o ausencia del antígeno HLA-B27.

Reproducibilidad entre laboratorios

Se evaluaron muestras de 1418 sujetos, incluidos 258 sujetos positivos para HLA-B27, en tres centros europeos situados en Bremen (Alemania), Gante (Bélgica) y Estrasburgo (Francia). Entre estos centros, las poblaciones positivas para HLA-B27 se evaluaron para comprobar la concordancia en términos de intensidad de fluorescencia media (IFM) mediante citometría de flujo. Dado que el procedimiento analítico necesita un valor de marcador predeterminado específico del lote, que separa los valores negativos de los positivos, la estabilidad de la IFM en una muestra teñida es crucial para la



reproducibilidad. Las determinaciones en los tres centros fueron similares de acuerdo con los cálculos de media y desviación estándar de la IFM de las muestras positivas para B27.

Reproducibilidad interdiaria

La reproducibilidad interdiaria (longitudinal) se evaluó en Bremen (Alemania). Se recogieron muestras de sangre de cinco donantes positivos para HLA-B27, cinco donantes negativos para HLA-B27/positivos para B7 y cinco negativos para HLA-B27/negativos para B7. Las muestras de cada donante se recogieron y analizaron en tres días distintos para valorar la variabilidad longitudinal de este ensayo.

Los resultados demuestran una reproducibilidad interdía aceptable. Ninguna variabilidad observada en las muestras de los donantes alteró las determinaciones de la presencia o ausencia del antígeno HLA-B27.

Concentración de leucocitos

Todos los lotes de reactivo BD® HLA-B27 se analizan para compararlos con suspensiones celulares (muestra de sangre completa) a fin de garantizar un rendimiento óptimo en 50 µl de sangre completa. Para este estudio, el rango normal fue de $3,5 \times 10^3$ a $9,4 \times 10^3$ leucocitos/µl. Los resultados demuestran ser exactos en el rango de $3,5 \times 10^3$ a $9,4 \times 10^3$ leucocitos/µl.

Se recogieron muestras de sangre de cuatro donantes positivos para HLA-B27. A fin de validar que una muestra de sangre con un recuento total de leucocitos dentro del rango de concentración normal de $3,5$ a $9,4 \times 10^3$ leucocitos/µl arrojaría resultados exactos y reproducibles, se analizó un rango de concentraciones de 100 leucocitos/µl a $3,3 \times 10^5$ leucocitos/µl de cada muestra, que posteriormente se comparó con los resultados de la muestra de sangre completa de ese donante. Todas las muestras siguieron siendo positivas en el rango de concentración celular de 100 leucocitos/µl a $4,6 \times 10^4$ leucocitos/µl. Los resultados indican exactitud dentro del rango normal de concentraciones de leucocitos periféricos.

Estabilidad de la sangre completa y estabilidad de la sangre teñida

Sistema BD FACSVia™

Se llevó a cabo un segundo estudio en el sistema BD FACSVia™ con 46 donantes (18 positivos, 2 no concluyentes y 26 negativos) utilizando tubos de recogida de sangre con EDTA, ACD-A y heparina. Los resultados demostraron que las muestras conservadas a temperatura ambiente (20–25 °C) eran estables durante un máximo de 48 horas antes de la tinción. Una vez teñidas y conservadas a 2–8 °C, las muestras eran estables durante un máximo de 24 horas.

Sistemas BD FACSCanto™ y BD FACSCalibur™

Se llevó a cabo un estudio sobre los sistemas BD FACSCanto™ y BD FACSCalibur™ con 30 donantes (11 de los cuales eran positivos) utilizando tubos de recogida de sangre con EDTA y ACD-A. Los resultados demostraron que las muestras con EDTA y ACD-A conservadas a temperatura ambiente (20–25 °C) eran estables durante un máximo de 48 horas antes de la tinción. Una vez teñidas y conservadas a 2–8 °C, las muestras eran

estables durante un máximo de 24 horas. Los análisis han demostrado que la expresión de HLA-B27 disminuye con el tiempo en tubos ACD-B de recogida de sangre, lo que puede producir resultados incorrectos. Por lo tanto, no se recomienda usar tubos con ACD-B para la recogida de muestras.

Se llevó a cabo un segundo estudio en el sistema BD FACSCanto™ con 16 donantes (5 de los cuales eran positivos) utilizando tubos de recogida de sangre con EDTA y heparina. Los resultados demostraron que las muestras con EDTA y heparina conservadas a temperatura ambiente (20–25 °C) eran estables durante un máximo de 48 horas antes de la tinción. Una vez teñidas y conservadas a 2–8 °C, las muestras eran estables durante un máximo de 24 horas.

Estos estudios demuestran que el uso de EDTA, heparina y ACD-A como anticoagulantes produce resultados equivalentes en las dos plataformas.

Sistema BD FACScan™

Se llevó a cabo un estudio en el sistema BD FACScan™ con 10 donantes (5 de los cuales eran positivos) utilizando tubos de recogida de sangre con EDTA, heparina o citrato, fosfato y glucosa (CFG). Los resultados demostraron que las muestras con EDTA, heparina y CFG conservadas a temperatura ambiente (20–25 °C) eran estables durante un máximo de 24 horas antes de la tinción. Una vez teñidas y conservadas a 2–8 °C, las muestras eran estables durante un máximo de 24 horas.



MEGAN ZURZOLI
DIRECTOR, LABORATORY SERVICES

SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Problema observado	Posibles causas	Soluciones recomendadas
No se encuentra un área de selección aceptable	Menos del 2 % de los eventos son linfocitos T, lo que puede deberse a:	
	<ul style="list-style-type: none"> Parámetros del instrumento incorrectos 	Compruebe que todos los parámetros del instrumento concuerden con el informe de calibración actual.
	<ul style="list-style-type: none"> Lisis de eritrocitos incompleta 	Compruebe que se han seguido correctamente todos los pasos del procedimiento. Consulte el punto 4 de Tinción y fijación de las células .
	<ul style="list-style-type: none"> Uso de reactivos incorrectos 	Compruebe que se estén usando los reactivos adecuados; prepare una muestra nueva.
	<ul style="list-style-type: none"> Fallo del instrumento 	Vuelva a calibrar el instrumento.
	<ul style="list-style-type: none"> Adquisición de muy pocos linfocitos T 	Adquiera más eventos; cambie los criterios de detención del software, si es necesario.
	Separación insuficiente entre poblaciones CD3 ⁺ y CD3 ⁻ debido a:	
	<ul style="list-style-type: none"> La preparación de la muestra es inadecuada 	Prepare una muestra nueva.
	<ul style="list-style-type: none"> Muestra de sangre demasiado antigua (consulte Recogida y preparación de muestras) 	Obtenga del sujeto una muestra de sangre nueva y repita la tinción.
	<ul style="list-style-type: none"> Preparación teñida demasiado antigua (>24 horas después de la tinción) 	Prepare y tiña muestras nuevas; analícelas en las 24 horas siguientes a la tinción.
	Reactivo caducado o no usado según las instrucciones	Compruebe la fecha de caducidad del reactivo; asegúrese de que se ha almacenado y manipulado de acuerdo con las condiciones que se indican en estas instrucciones de uso.
Calibración incorrecta del instrumento	Compruebe que todos los parámetros del instrumento concuerden con el informe de calibración actual. Compruebe que se haya usado el sufijo correcto para microesferas de calibración HLA-B27.	
Error en las muestras de control	No se ha realizado la calibración	Realice la calibración del instrumento.
	La preparación de la muestra es inadecuada	Prepare una muestra nueva.
	Sufijos de las microesferas, del reactivo o de ambos introducidos incorrectamente	Vuelva a introducir los números de sufijo correctos y repita la calibración de BD [®] HLA-B27.



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.

REFERENCIAS

- 1 Dausset J. The major histocompatibility in man. Past, present, and future concepts. *Science*. 1981;213:1469-1474.
- 2 Lopez-Larrea C, Gonzalez-Roces S, Alvarez V. HLA-B27 structure, function, and disease association. *Curr Opin Rheumatol*. 1996;8:296-308.
- 3 Seipp MT, Erali M, Wies RL, Wittwer C. HLA-B27 typing: evaluation of an allele-specific PCR melting assay and two flow cytometric antigen assays. *Cytometry B Clin Cytom*. 2005;63:10-15.
- 4 Levering WH, Wind H, Sintnicolaas K, Hooijkaas H, Gratama JW. Flow cytometric HLA-B27 screening: cross-reactivity patterns of commercially available anti-HLA-B27 monoclonal antibodies with other HLA-B antigens. *Cytometry B Clin Cytom*. 2003;54B:28-38.
- 5 Johnson J, Garbutt J, Nelson KA. A monoclonal antibody specific for HLA-B27. *Hum Immunol*. 1985;14:134-135.
- 6 Taurog JD, el-Zaatari FA. In vitro mutagenesis of HLA-B27. Substitution of an unpaired cysteine residue in the alpha 1 domain causes loss of antibody-defined epitopes. *J Clin Invest*. 1988;82:987-992.
- 7 Haynes BF. Summary of T cell studies performed during the Second International Workshop and Conference on Human Leukocyte Differentiation Antigens. In: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID, eds. *Leukocyte Typing II: Human T Lymphocytes*. New York, NY: Springer-Verlag; 1986;1:3-30.
- 8 Ledbetter JA, Evans RL, Lipinski M, Cunningham-Rundles C, Good RA, Herzenberg LA. Evolutionary conservation of surface molecules that distinguish T-lymphocyte helper/inducer and cytotoxic/suppressor subpopulations in mouse and man. *J Exp Med*. 1981;153:310-323.
- 9 Kan EAR, Wang CY, Wang LC, Evans RL. Noncovalently bonded subunits of 22 and 28 kd are rapidly internalized by T cells reacted with Anti-Leu-4 antibody. *J Immunol*. 1983;131:536-539.
- 10 Knowles RW. Immunochemical analysis of the T cell-specific antigens. In: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID, eds. *Leukocyte Typing II: Human T Lymphocytes*. New York, NY: Springer-Verlag; 1986;1:259-288.
- 11 *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline—Fourth Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014. CLSI document M29-A4.
- 12 [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.](https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/isolation/index.html)
- 13 *Collection of Diagnostic Venous Blood Specimens; Approved Standard—Seventh Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017. CLSI document GP41-Ed7.



PATENTES Y MARCAS COMERCIALES

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

BD, el logotipo de BD, BD CellFIX, BD CellWASH, BD FACSComp, BD FACSCFlow, BD FACSort, BD FACStation, Calibrite, FACS, FACSCalibur, FACScan, FACSCanto, FACSVia 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
23-2563(15)	2023-10	Se ha modificado el número de revisión para la alineación de la gestión de documentos.
23-2563(16)	2023-10	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. Se han actualizado las declaraciones de peligro y precaución.



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 proceso 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 instrucciones de uso
	Vía fluida estéril
	Vía fluida estéril (óxido de etileno)
	Vía fluida estéril (radiación)
	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 ≤ 10 pruebas
	Sólo para la evaluación del funcionamiento en diagnóstico in vitro
	Apyridogeno
	Número de paciente
	Este lado hacia arriba
	No aplicar

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

Símbolo	Significado
	Sistema de barrera estéril única
	Contenido o presencia de ftalato: combinación de di(2-etilhexil) ftalato (DEHP) y babilbericilato (BSE)
	Reciclar por separado
	Indica la recogida por separado obligatoria de los residuos de aparatos eléctricos y electrónicos.
	Marca CE; significa que cumple con la especificación técnica europea
	Prueba diagnóstica en el lugar de asistencia al paciente
	Producto para autodiagnóstico
	Rx Only Esto solo se aplica a EE.UU. «Precaución: La ley federal estadounidense impone restricciones sobre este dispositivo, cuya venta debe ser realizada por un médico o por orden de este».
	País de fabricación ≤ 10 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
	≤ 10 de envase/≤ 10 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
	This Product Contains Dry Natural Rubber Este producto contiene goma natural seca
	For Export Only Solo para exportación
	Instruments Instrumentos

LD06715(08) 2023-03



INFORMACIÓN DE CONTACTO



Becton, Dickinson and Company BD Biosciences

155 North McCarthy Boulevard
Milpitas, California 95035 USA

EC REP

Becton Dickinson Ireland Ltd.

Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, 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



efi.bd.com

STEFANIA ZINGOLI
EUROPEAN CUSTOMER SUPPORT
BD BIOSCIENCES



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.

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 36 pagina/s.