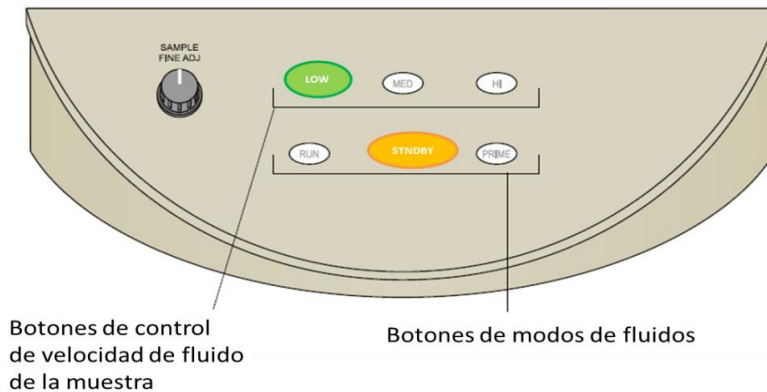


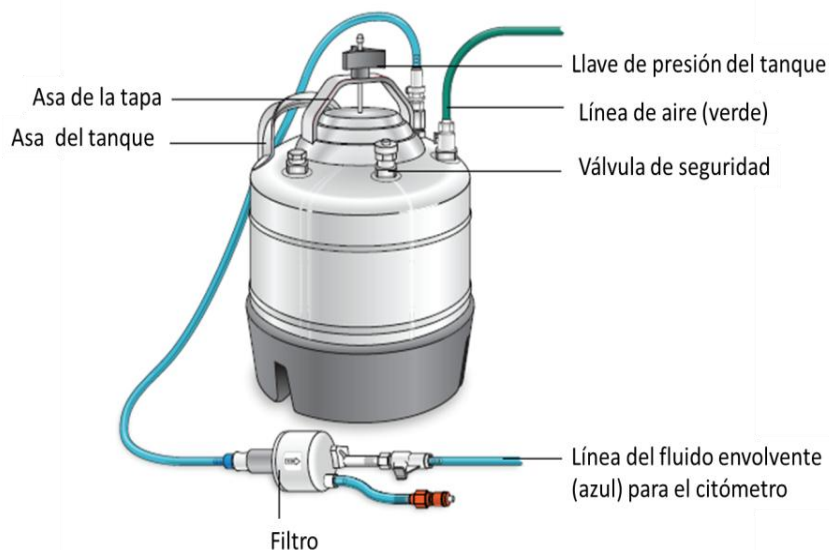
## I. Inicio del instrumento.

1. Encienda la UPS y el citómetro del botón verde localizado en la parte superior derecha.
2. Al encender el citómetro deberá de observar en el panel de control de fluidos que se encuentra en el modo de **STNDY** y en la velocidad de **LOW**.

Panel de control de fluidos



3. Permita la estabilización del sistema óptico al menos de 30 minutos (Evitar la estabilización puede afectar la adquisición de la muestra).
4. Cada vez que use el citómetro cheque los niveles de fluidos del tanque del BD FACSTFlow™ (fluido envolvente) y del tanque de desechos.
5. Para ello localice primero el tanque del BD FACSTFlow™, el cual se encuentra fuera del citómetro y se localiza en el piso. Relaciónese con sus componentes como se muestra en la figura



- Este tanque es de 8L de capacidad, cuando se presuriza el fluido envolvente se filtra a través de la línea por un filtro el cual evita que pequeñas partículas entren a la línea de fluido pudiendo obstaculizar la celda de flujo.

**NOTA:** El tanque no se llena a su máxima capacidad sino sólo  $\frac{3}{4}$  partes (Aprox 6L) debido a que el instrumento funciona por presión de tipo positiva, si este se llena por completo se produce presión errática que no es adecuada para el sistema.

Para preparar el contenedor:

5.1. Verifique que el citómetro siempre se encuentre en el modo de stand by en el panel de control de fluidos, presione el botón en caso de que sea necesario. Moviéalo sosteniéndolo por su asa.

5.2. Desconecte la línea del aire (línea verde) del tanque del BD FACSTFlow™.

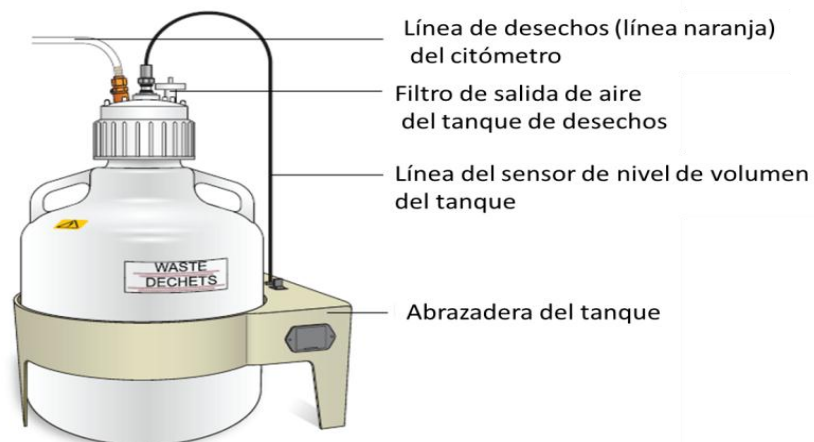
5.3. Libere la presión del tanque de la válvula de seguridad.

5.4. Abra la tapa del contenedor desenroscando la llave de presión del tanque, si es necesario empuje hacia abajo y ladéela.

5.5. Adicione 6L del BD FACSTFlow™ al contenedor.

5.6. Coloque de nuevo la tapa del tanque ladeándola y girando la llave de presión del contenedor ajustando fuertemente, asegúrese que el asa de metal de la tapa queda a la mitad de esta. Si la tapa no está bien cerrada el tanque no presurizará adecuadamente. Verifique que la línea azul del fluido envolvente no está enrollada, si es así puede desconectar la línea y desenrollarla.

6. Para preparar el tanque de desechos al igual que el tanque del fluido envolvente se encuentra fuera del citómetro y se localiza también en el piso. Relaciónese con sus componentes como se muestra en la figura.





## Guía de mantenimiento y operación estándar para el Citómetro de Flujo BD LSRFortessa™

- Este tanque es de 10L de capacidad, cuando el tanque se llena suena una alarma.

**PRECAUCIÓN:** Para evitar derrames biológicos asegúrese que el citómetro se encuentra en el modo de standby antes de desconectar el tanque de desechos, los líquidos contenidos en el mismo deben ser inactivados con cloro al 10% del total de su volumen. Para el cambio del tanque es necesario contar con la vestimenta de laboratorio apropiada, guantes, cubrebocas y goggles o bien mascarilla de protección.

6.1 Desconectar la línea naranja del contenedor de desechos y la línea negra del sensor de nivel de volumen del contenedor. Mantener la tapa del contenedor cerrada hasta estar listo a su desecho. Su manipulación se realizará con las precauciones apropiadas y de acuerdo a las normas establecidas para cada laboratorio y las legislaciones locales establecidas en cada región.

6.2. Destapar el contenedor y vaciar su contenido

**PRECAUCIÓN:** El contenedor es muy pesado cuando se llena, evitar cargarlo una sola persona, sin ayuda.

6.3. Al tanque vacío adicionarle aproximadamente 1L de cloro comercial concentrado (10X) y tapanlo. Al inactivarse esta solución quedará 1X.

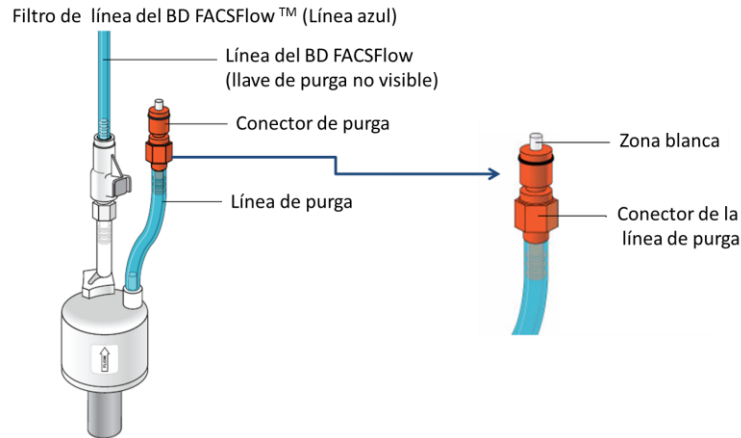
6.4. Reconectar la línea naranja de desechos y la línea negra del sensor del nivel de volumen del tanque, asegúrese que no estén enrolladas ambas líneas, si es así desenróllelas y posteriormente conecte.

6.5. Cheque que el filtro de salida del aire no esté obstaculizado ni húmedo, si es así cámbielo, ya que esto puede provocar vacío en el contenedor por lo que la línea de desecho se llene regrese este contenido a la celda de flujo contaminándola.

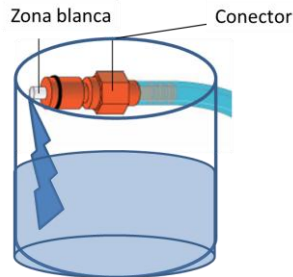
7. Una vez que ambos tanques hayan sido preparados, en el tanque del BD FACSSFlow™ reconecte la línea del aire (línea verde) y deje que el tanque se presurice por alrededor de cinco minutos, para que la presión se estabilice dentro del mismo.

8. Una vez que la presión se estabilice es necesario eliminar burbujas de aire de la línea del fluido envolvente, estas burbujas pueden ocasionar que la adquisición de datos en el citómetro no sea la adecuada. Para este paso es necesario familiarizarse con la línea del fluido envolvente (línea azul) que contiene el filtro en la figura se muestran sus componentes.

## Guía de mantenimiento y operación estándar para el Citómetro de Flujo BD LSRFortessa™



8.1. Si las burbujas de aire son visibles, gentilmente golpear el filtro con la mano para forzar a que estas vayan hacia arriba del filtro. Presionar el conector de la línea del filtro en la parte blanca con un recipiente hasta que el líquido fluya a través de él, tratando de que las burbujas de aire del filtro sean eliminadas.

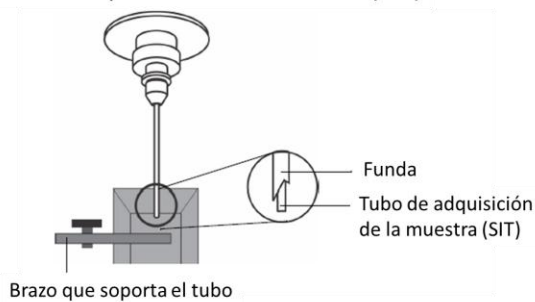


8.2 Checar que la línea del fluido envolvente (azul) no tenga burbujas de aire.

8.3 En caso de persistir las burbujas, abrir la llave del filtro para movilizar líquido desde el tanque en un contenedor hasta que las burbujas no sean visibles. Dejar de presionar la llave.

9. Las burbujas pueden persistir en la celda de flujo por lo que es necesario purgarla, esto se hace a través del panel de control de fluidos de la siguiente forma. Relaciónese con la figura para la siguiente serie de instrucciones.

### Puerto de aspiración de la muestra (SIP)



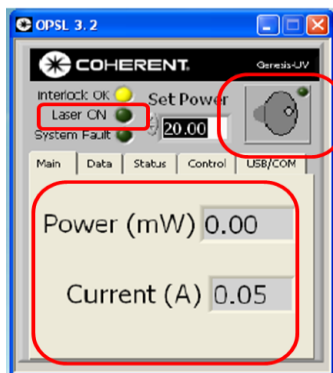
9.1. Para eliminar las burbujas asegúrese que en el **SIP** se encuentre instalado un tubo falcon de 12 x 75 mm con 1 mL de agua desionizada y en el panel de control de fluidos se encuentre en **STNDBY** y en la velocidad de flujo **HIGH**.

9.2. Presione al menos 5 veces **PRIME** del panel del control de fluidos, esta instrucción elimina las burbujas en la celda de flujo ya que el sistema adiciona aire vaciando la celda y volviéndola a llenar, cada vez que se dé la instrucción en el instrumento en automático regresa al modo de fluido **STNDBY**.

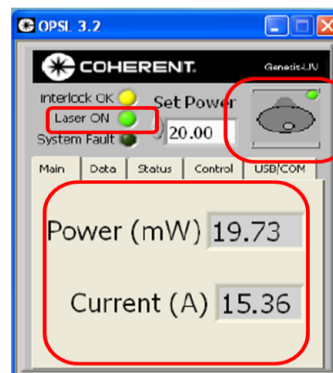
10. El instrumento está listo para usarse. Todo este proceso es manual y en la computadora no hay aviso por parte del software si los tanques están llenos o vacíos por lo que hay que estar siempre pendiente de los niveles y asegurarse de realizar todos estos pasos para evitar que en el instrumento se acabe el fluido envolvente y se pare la adquisición por ello. Recuerde que el tanque de desechos contiene un sensor de alerta que sonará cuando esté lleno.

11. Encender la computadora y se presentará un cuadro de diálogo en cuya entrada en administrador escribir la clave con mayúsculas ADMIN#1.

12. Dar doble click con el ratón en el ícono del escritorio para encender el **OPSL UV laser control software**, en las figuras se muestra como se observa el software cuando el láser está apagado y encendido.



Laser apagado



Laser encendido

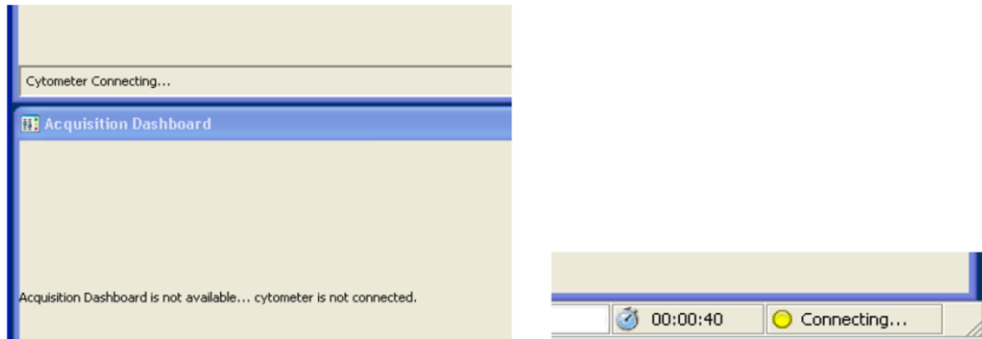


13. Iniciar el BD FACSDiva software dando doble click en el ícono

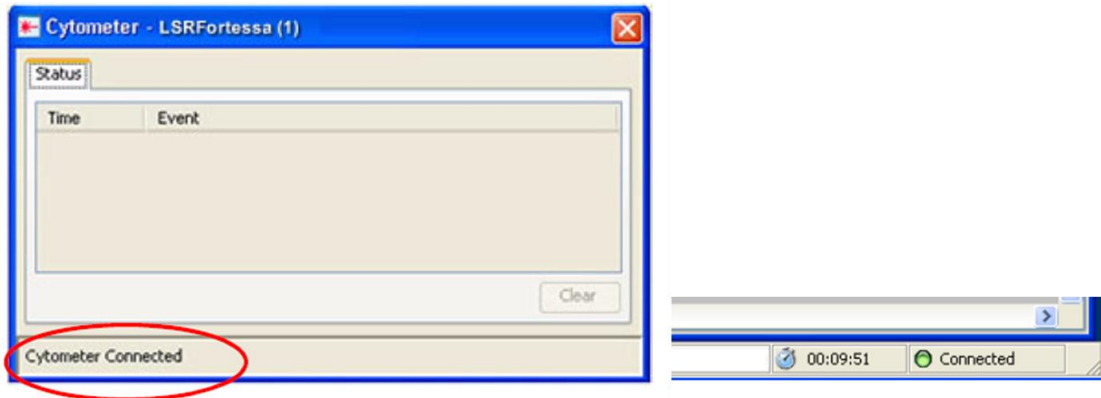
14. Se abrirá un cuadro de dialogo donde deberá colocar en administrador su clave en caso de no tener dar ok.



15. Permita al citómetro conectarse.



16. Una vez conectado el instrumento el escritorio se observará de esta manera



17. El instrumento está listo para su uso.

## II. CONTROL DE CALIDAD DEL INSTRUMENTO

### a. CST

1. Proceder a realizar el ajuste del instrumento (Para seleccionar baseline y una nueva configuración se debe estar en la modalidad de **administrador**, ya que en la forma de **operador** sólo está activa el ajuste de Check Performance) con las perlas CS&T. Checar la versión del BD FACSDiva software ya que de ello dependerá que lotes de perlas habrá que bajar de la red de la página <http://bdbiosciences.com/csandt>. La versión 6.0 utilizan las perlas del vial naranja y la versión 7.0 y 8.0 utilizan las perlas del vial azul, checar en el costado del vial el lote del mismo. Ver la figura a continuación, como ejemplo se colocan un par de viales naranja; de igual manera se localizan para el vial azul.



Fecha de caducidad  
Lote de perlas

En el costado del vial se observa arriba la fecha de caducidad de las perlas y abajo se localiza el lote de las perlas.

2. Al acceder a la página del lado derecho en CS&T Bead Lot Files marcado en rojo, dar click con el ratón



BD Biosciences logo: Helping all people live healthy lives

BD Biosciences logo: BD Biosciences

Sign In

INSTRUMENTS REAGENTS CELL CULTURE APPLICATIONS SUPPORT

Home / Instruments and Software / Software / Downloads

DOWNLOADS Overview

**BD™ Cytometer Setup and Tracking Bead Lot Files (BD FACSDiva™ v6.x)**

Each lot of BD™ Cytometer Setup & Tracking beads (CS&T beads) has an associated bead lot file that needs to be downloaded from this website and then imported into BD FACSDiva™ software v6.x.

**Download Instructions**

To download and install the appropriate bead lot file, please follow these instructions. (You may wish to print them.)

1. On the [BD FACSDiva Support](#) page, go to the section for the version of BD FACSDiva software that you are using.
2. Click the link that matches the bead lot number on your vial of CS&T beads. This will begin the download process.
3. If you are downloading directly to the cytometer workstation, save the zipped bead lot file to C:\Program Files\BD FACSDiva Software\CST\Bead Lot

Otherwise, download the bead lot file to any location and manually transfer it via network, flash drive, or other method to C:\Program Files\BD FACSDiva Software\CST\Bead Lot.

4. After saving the bead lot file in the proper folder, unzip it and start BD FACSDiva software on the cytometer workstation.

BROWSE PRODUCTS

Key Resources

- CS&T Bead Lot Files**
- CS&T Beads Data Sheet
- Standardizing Application Setup Across Multiple Flow Cytometers
- Qr and Br in BD FACSDiva Software
- All Resources >

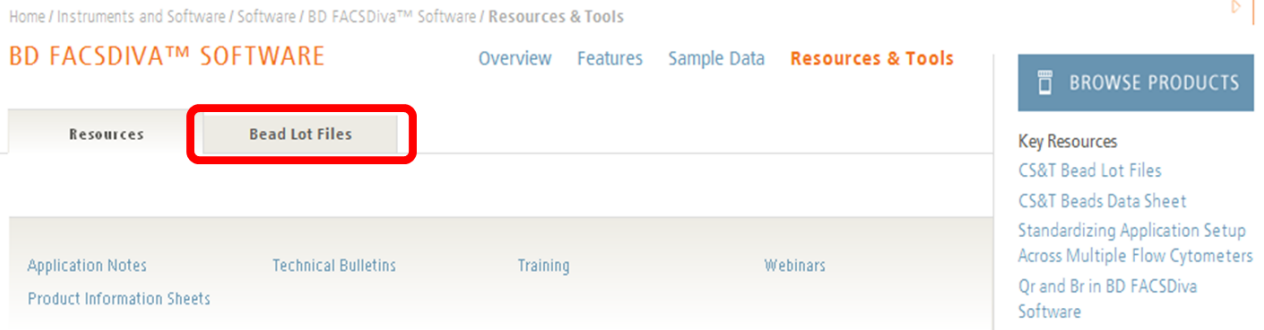
Related Links

- BD FACSCanto Flow Cytometer Flow Cytometry

More Information

- Ask BD
- News and Events
- Sign Up for Email Updates

3. Dar click en la pestaña de Bead Lot Files (cuadro rojo)



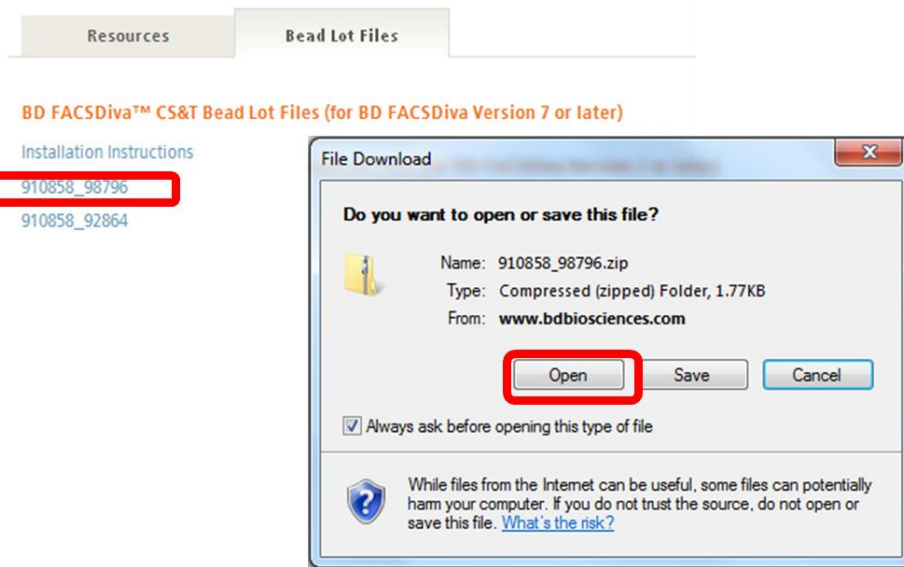
4. Escoger los archivos de Bead Lot Files correspondiente, si son de la versión 7.0 u 8.0 se presentan los lotes arriba y si son de la versión 6.0 se presentan los lotes abajo. (Dar click en caso de requerir más información en Installation Instructions de cómo instalar los Bead Lot Files).



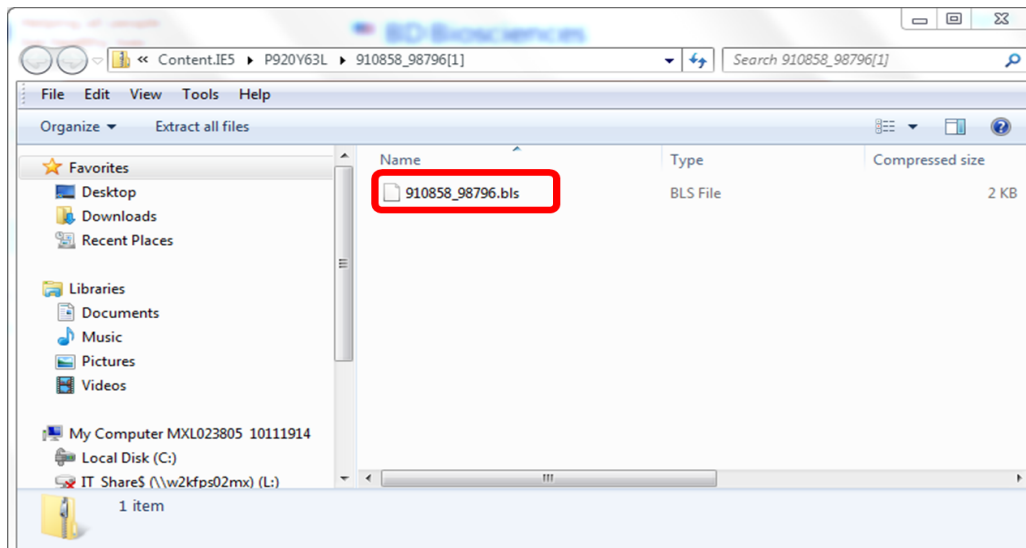
5. Dar click en el Bead Lot Files correspondiente. Este archivo esta creado por un número de parte seguido de un guion bajo y a continuación por el lote de sus perlas.

Por ejemplo: Dar click en el **910858\_98796**. Se abrirá un cuadro de diálogo en el cual dar click en **Open**.





En Open se desplegará un nuevo cuadro dialogo donde tendrá que direccionar donde guardará el Bead Lot Files, de preferencia en una USB o un CD que se use de forma exclusivo para el citómetro de flujo. Dar en el archivo **Ctrl + C** y posteriormente **Ctrl + V** para guardarlo.



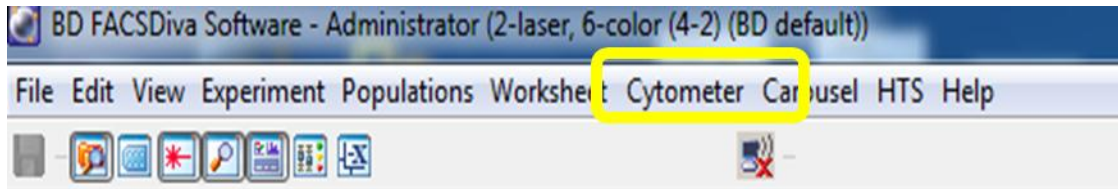
6. Cargar el Bead Lot Files dependiendo de la versión del software y guardarlo en la dirección que corresponda.

6.1. Si se está cargando archivos de la versión 6.0 o 7.0, ambos software corren en la plataforma Windows®XP. Para guardar los archivos en la Workstation seguir la localización: **C:\Program Files\BD FACSDiva Software\CST\Bead Lot**.

6.2. Si se está cargando archivos de la versión 8.0, este software corre en la plataforma Windows®7. Para guardar los archivos en la Workstation seguir la localización: **D:\BD\FACSDiva\CST\Bead Lot**.

7. Para cargar estos lotes de perlas en el módulo de CS&T realizar estos pasos:

7.1. En el BD FACSDiva SW dar click en el menú desplegable **Cytometer>CST**

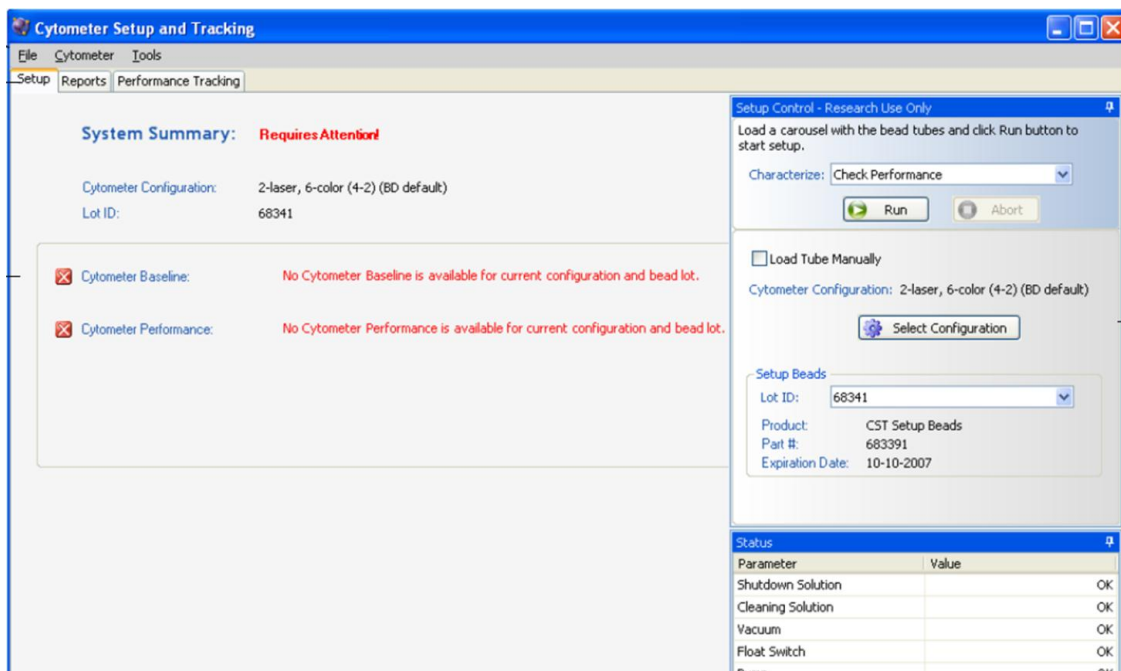


7.2. Temporalmente el BD FACSDiva SW se desconecta

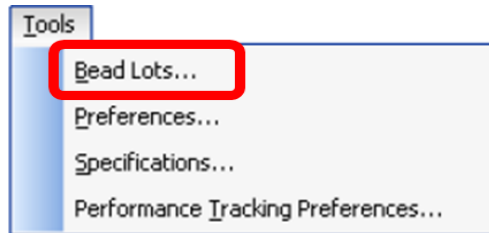
BD FACSDiva Software is in CST mode, not accepting user input.

y entra al módulo del

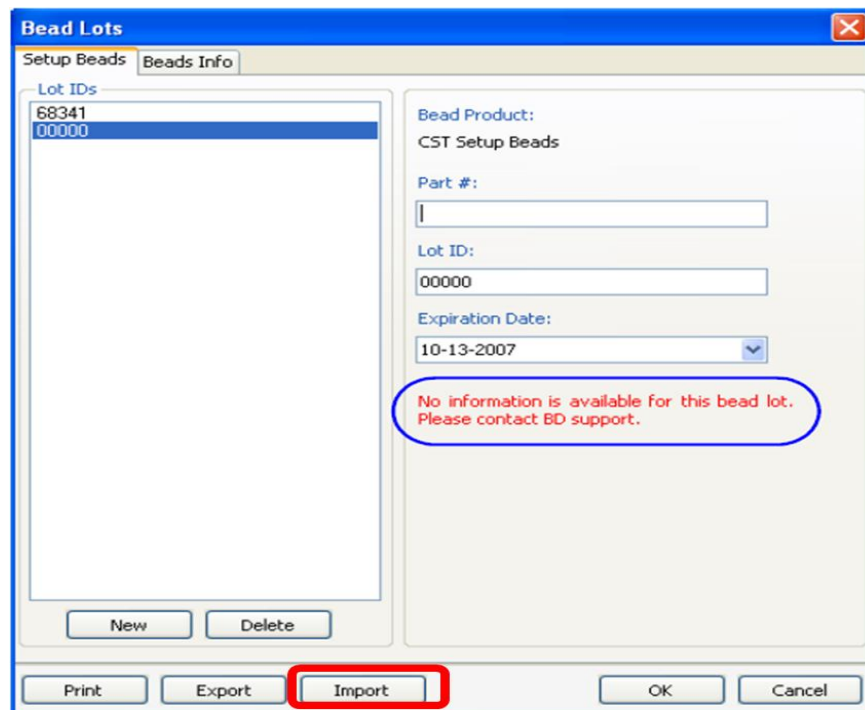
CST y el espacio de trabajo se ve de la siguiente manera:



7.3. En el menú desplegable del módulo dar click en **Tools** y señalar con el ratón el submenú **Bead Lots**.



7.4. Aparecerá un cuadro de dialogo donde dar click en **Import** y seguir la dirección para importar los Bead Lots Files dependiendo de la versión del software como se estableció en el paso 23. Los archivos del lote de perlas se cargarán, al terminar dar OK.



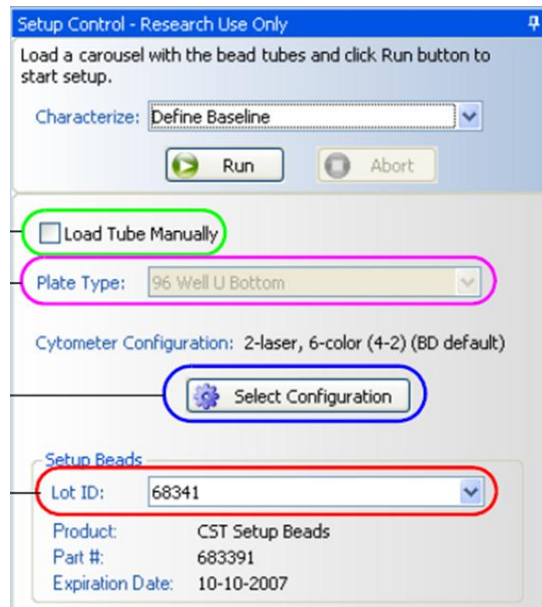
8. Si es la primera vez que se carga estos Bead Lots Files, checar la configuración del citómetro y seleccionar la configuración (Previamente hacer la configuración requerida) y correr Baseline (Línea Base).

**NOTA:** Esta Línea base se corre cada 6 meses, cada vez que se realiza un cambio en la configuración del instrumento, cuando se cambia de lote de perlas porque se acaben o que caduquen o bien cada vez que el servicio de ingeniería realiza un ajuste en el citómetro.

Para correr la línea base se requiere:

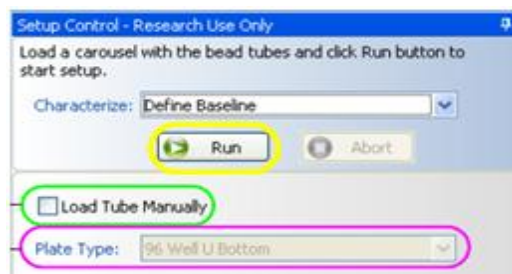
8.1. En el escritorio del módulo del CST del lado derecho dar click en el cuadro en azul para seleccionar la configuración que se requiere realizar la línea base, posteriormente dar click en el espacio señalado en rojo en Setup Beads y seleccionar el número de lote del Bead Lot Files correspondiente, checar que en el módulo se tenga señalado Load Tube Manually, en el caso de contar con el aditamento de placa dar click en el tipo de placa donde se preparó las perlas. En Characterize seleccionar **Define Baseline**.

Asegúrese que en el panel de control de fluidos se encuentre en la velocidad de LOW (No olvide colocar el botón de ajuste fino de la velocidad del flujo en 5 vueltas en sentido de las manecillas del reloj, para tener dicha velocidad)

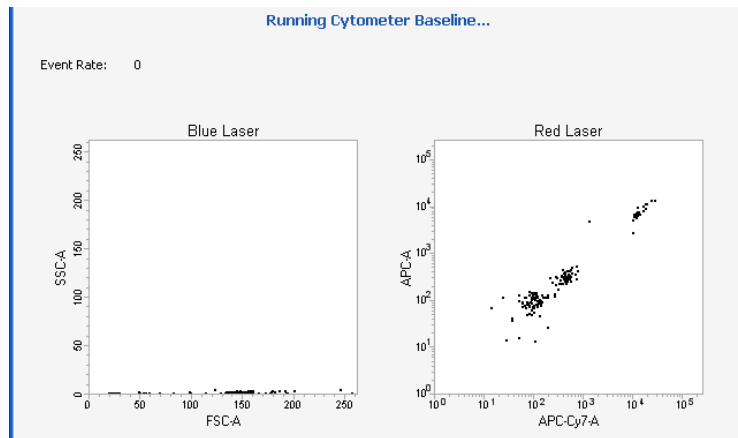


8.2. Preparar al momento las perlas CS&T para ello colocar en un tubo falcon 750  $\mu$ L de BD FACSFLOW de preferencia frío para conservar las fluorescencias, agitar el vial en vortex y adicionar 3 gotas en el tubo por caída libre. Si se usa placa adicionar 150  $\mu$ L y una gota de CST a los pozos desde A1 hasta A4. Agitar e instalar el tubo de las perlas en el SIP o la placa en el instrumento. Correr a través del panel de control de fluidos pasando del modo **STNDBY** a **RUN** de la muestra y colocar en la velocidad de flujo de **LOW**.

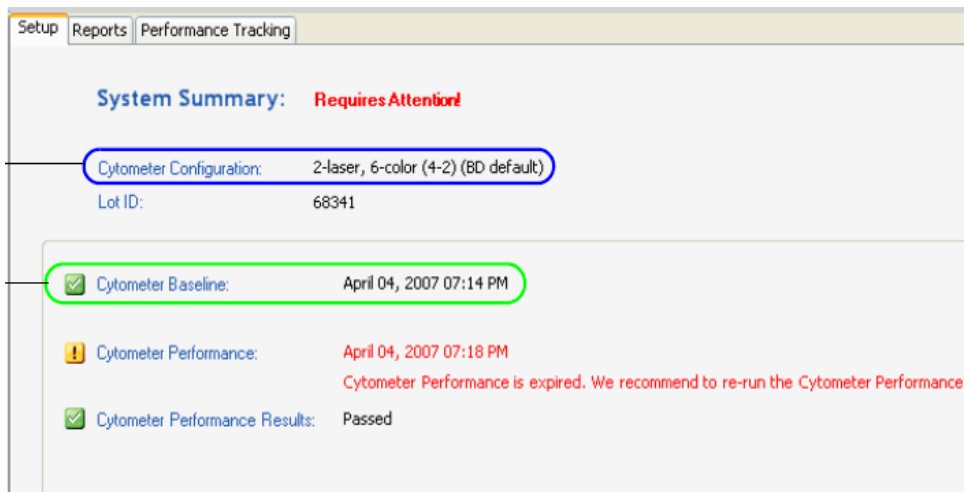
8.3. En éste momento las perlas están pasando ya en el **SIP** del instrumento, dar click también en el módulo de CST en **RUN** como se muestra en el recuadro en amarillo. Este procedimiento tarda alrededor de 20 min.



8.4 Durante esta fase el citómetro ajusta los laser, identifica las perlas, las cuales son de 2 tamaños (2 y 3  $\mu$ m) y tiene 3 intensidades de fluorescencia, ya que las perlas están revestidas de los fluorocromos que estos lasers excitan (Dim, Medium y Bright). Las perlas se ven de esta forma en el módulo.



Se colectan 42 determinaciones en donde se obtiene el voltaje óptimo de cada uno de estos detectores y se obtienen los valores blancos a los cuales debe llegar el instrumento. Una vez que el instrumento termine la línea base, desinstalar el tubo y colocar en el panel de control en el modo de fluido STNDBY. Revisar el reporte. Si el instrumento realizó todos estos pasos adecuadamente en System Summary aparecerá Cytometer Baseline con una tilde en verde y la fecha con la hora en la que se realizó la misma. Si algún parámetro debe revisarse lo marca en amarillo con un signo de admiración donde se pide atención y finalmente si algún parámetro no está dentro de los límites establecidos, lo marca con una cruz en rojo.

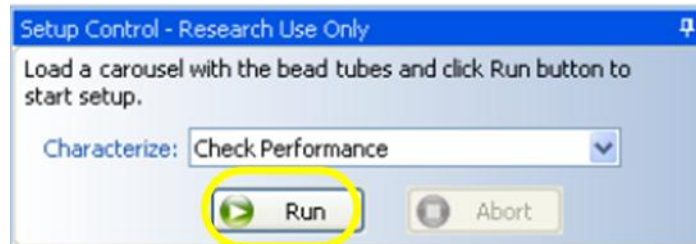


9. En el reporte revisar los valores de CV de las perlas brillosas los cuales no deben ser mayor a 6.0% de los canales primario, es decir, del detector más alejado al cual llega la señal de fluorescencia durante la selección de la longitud de onda por los filtros, por ejemplo para el laser azul BB515, para el rojo APC, para el violeta BV421, etc; así también los  $\Delta$ PMT no mayor a 50 Volts. El reporte consta de 10 hojas.

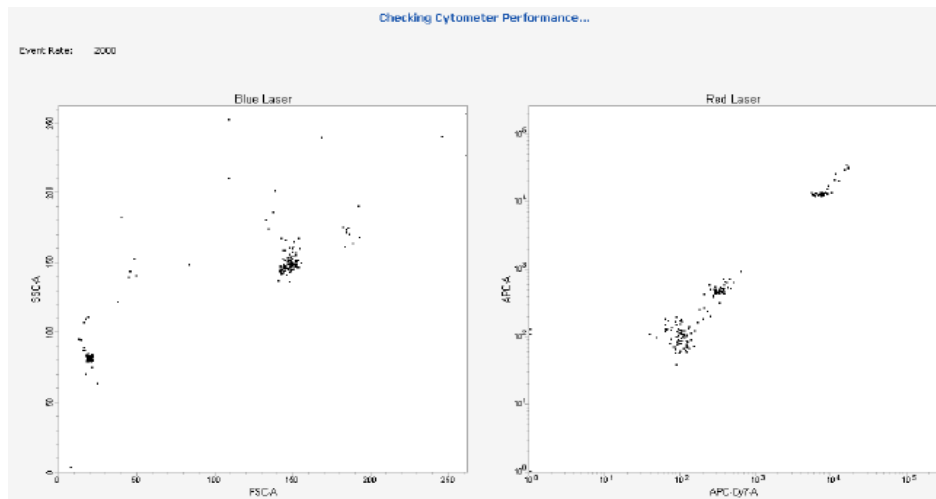
10. Esta línea base se irá monitoreando a través del ajuste diario denominado Check Performance que tiene una duración de 24h. Si se hizo primero baseline en el caso del uso del tubo, este mismo sirve para realizar este proceso, en caso de no haber realizado baseline preparar al momento las perlas CS&T; para ello colocar en un tubo falcon 350  $\mu$ L de BD FACSFLOW de preferencia frío para conservar las fluorescencias, agitar el vial en vortex y adicionar 1 gota en el tubo por caída libre. Si se usa placa adicionar 150  $\mu$ L y una gota de CST al pozo A1. Agitar e instalar el tubo de las perlas en el SIP o la placa

en el instrumento. Correr a través del panel de control de fluidos pasando del modo **STNDBY** a **RUN** de la muestra y colocar en la velocidad de flujo de **LOW**.

10.1. En éste momento las perlas están pasando ya en el **SIP** del instrumento, dar click también en el módulo de CST en RUN como se muestra en el recuadro en amarillo. Este procedimiento tarda alrededor de 5-7 min.

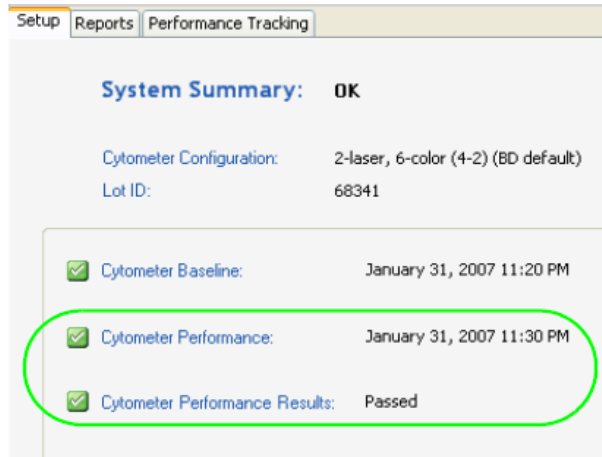


10.2. Durante esta fase el citómetro monitorea el ajuste de los laser, identifica las perlas, las cuales son de 2 tamaños (2 y 3  $\mu\text{m}$ ) y tiene 3 intensidades de fluorescencia, ya que las perlas están revestidas de los fluorocromos que estos lasers excitan (Dim, Medium y Bright). Las perlas se ven de esta forma en el módulo.

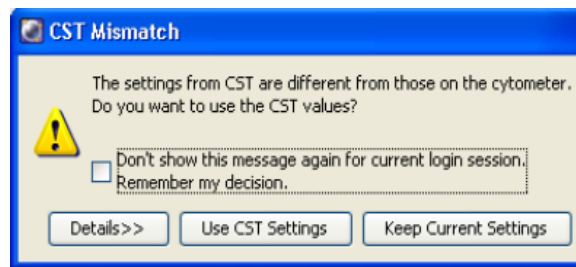


10.3. Durante este ajuste se colectan los datos de al menos 20 determinaciones en donde se monitorea los valores blancos de la baseline y que tanto se ha movido con respecto al Check Performance.

10.4. Una vez que el instrumento termine el Check Performance, desinstalar el tubo y colocar en el panel de control en el modo de fluido STNDBY. Revisar el reporte. Si el instrumento realizó todos estos pasos adecuadamente en System Summary aparecerá debajo de **Cytometer Baseline**, **Cytometer Performance** con una tilde en verde y la fecha con la hora en la que se realizó la misma y por debajo de estas **Cytometer Performance Results: Passed**, un ejemplo se encierra con un recuadro en verde a continuación. Si algún parámetro debe revisarse lo marca en amarillo con un signo de admiración donde se pide atención y finalmente si algún parámetro no está dentro de los límites establecidos, lo marca con una cruz en rojo.



11. En el reporte revisar los valores de CV de las perlas brillosas los cuales no deben ser mayor a 6.0% de los canales primario, es decir, del detector más alejado al cual llega la señal de fluorescencia durante la selección de la longitud de onda por los filtros, por ejemplo para el laser azul BB515, para el rojo APC, para el violeta BV421, etc; así también los  $\Delta$ PMT no mayor a 50 Volts. El reporte consta de 2 hojas.
12. Checar la pestaña de **Reports** para ver los reportes de la **Baseline** y de **Check Performance** y el **Performance Tracking** checar los gráficos de Levey-Jennings.
13. Cerrar el módulo de **CST** del menú desplegable **File>Exit** o simplemente del escritorio del lado derecho en la esquina superior dar click con el ratón la marca con una cruz en rojo.
14. Al regresar al BD FACSDiva SW se presentará el recuadro que a continuación se presenta

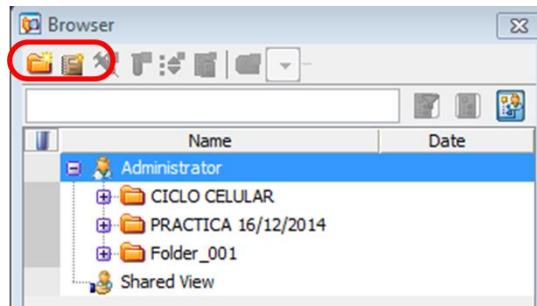




Si todos los ajustes de la configuración a utilizar fueron las adecuadas dar click en **Use CST Settings**, en caso de que estos no hayan sido los adecuados dar click en **Keep Current Settings** para que el instrumento regrese a los ajustes realizados antes de haber corrido las CST.

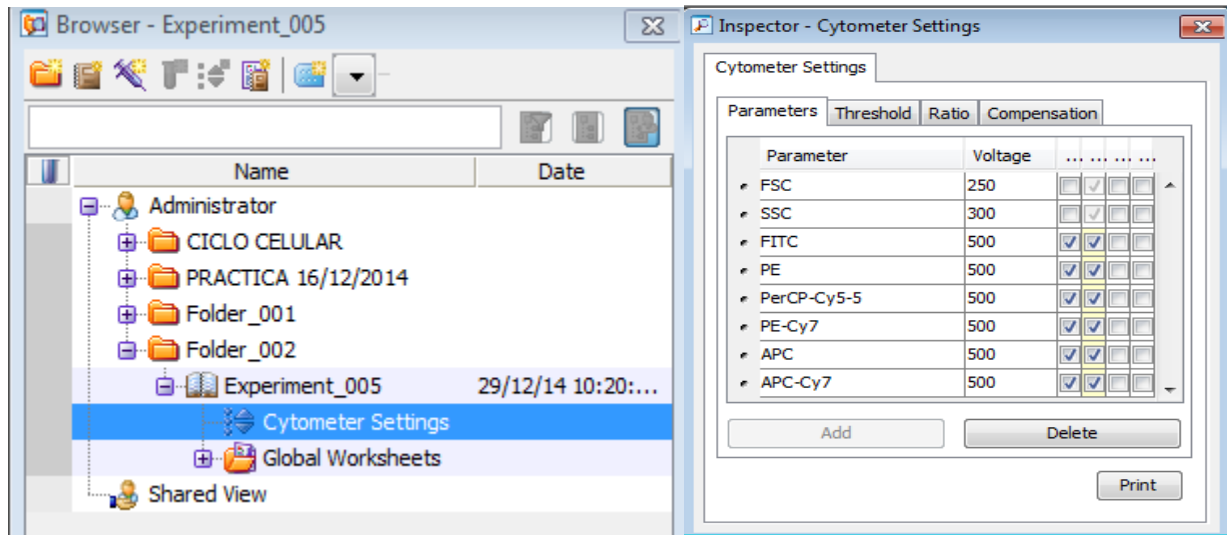
NOTA: Las perlas CST no realizan la compensación, por lo que es necesario realizar la matriz adecuada para cada experimento. Un ejemplo se ilustra a continuación.

**b. COMPENSACION**

1. Para iniciar un experimento en el browser pararse en **Administrator**



2. Dar click primero en el ícono de folder  y darle nombre, colocándose con el ratón en el mismo, según su conveniencia, posteriormente dar click en el ícono del experiment , cada experimento contiene los Cytometer Settings y una global Worksheet como se muestra

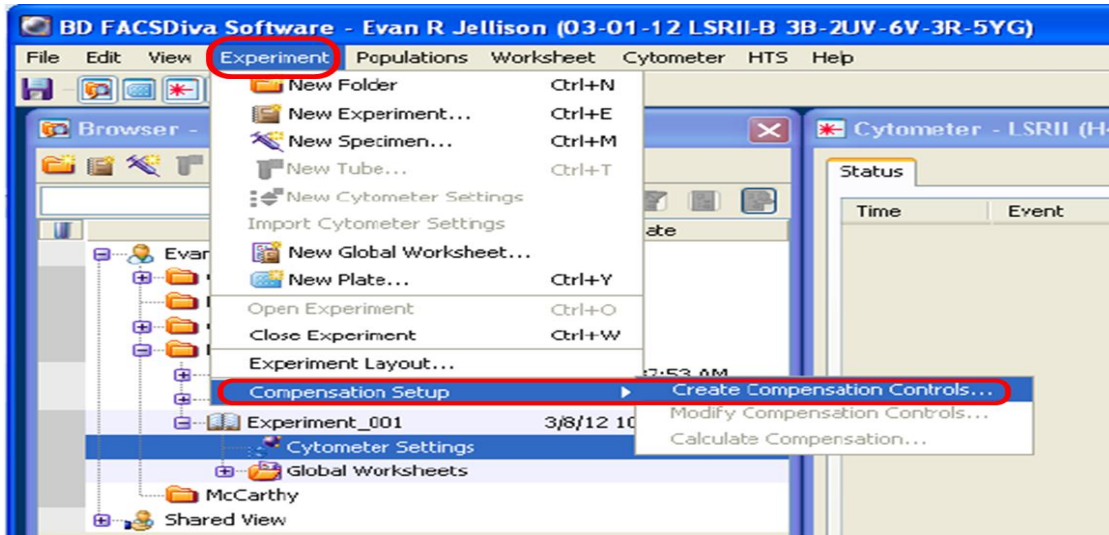


3. En Cytometer Settings seleccione en la pestaña de Parameters los parámetros que serán necesarios para su experimento, en la de Treshold el parámetro que será utilizado. La pestaña de Compensation aparecerá en ceros.

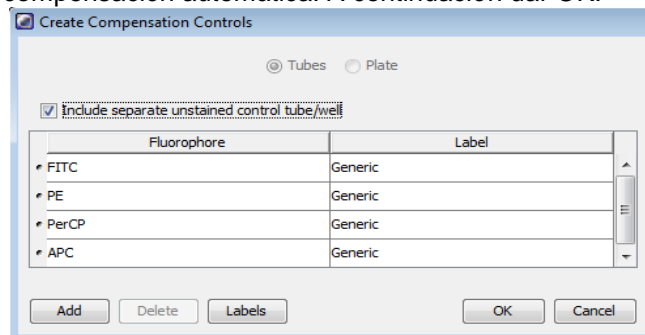
Por ejemplo escoger, FSC, SSC, FITC, PE, PerCP y APC y escoger como treshold FSC, cuyo valor por default es 5000.

4. A continuación dar click en el menú desplegable **Experiment>Compensation setup>Create compensation controls**.

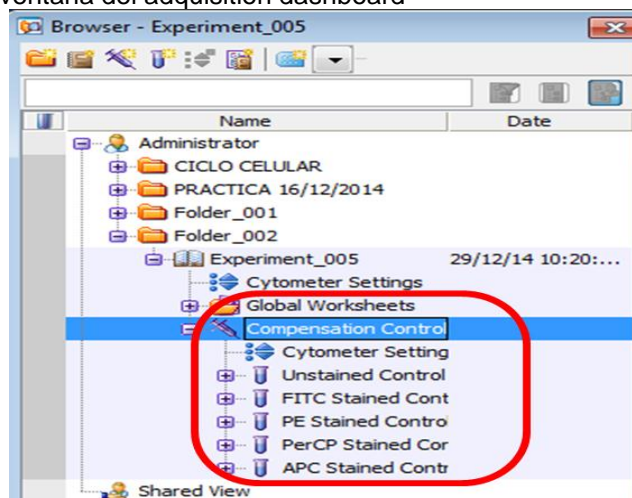


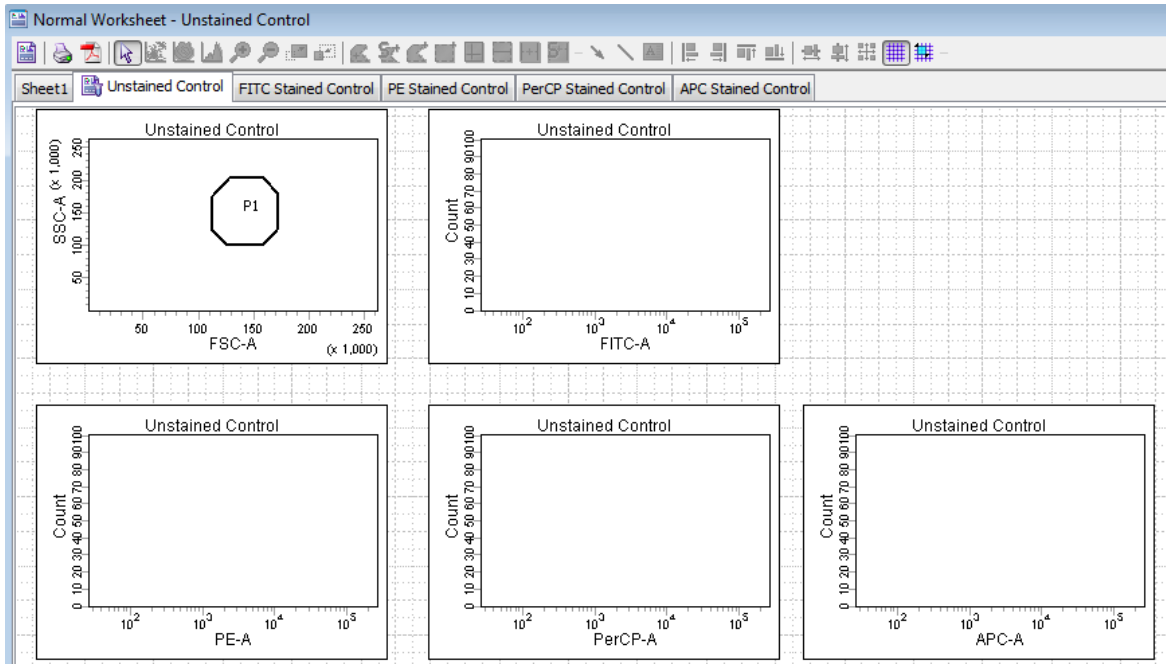


5. Se presentará el siguiente cuadro de diálogo en el cual deberá incluir un tubo no teñido y los 4 colores en donde se realizará la compensación automática. A continuación dar OK.

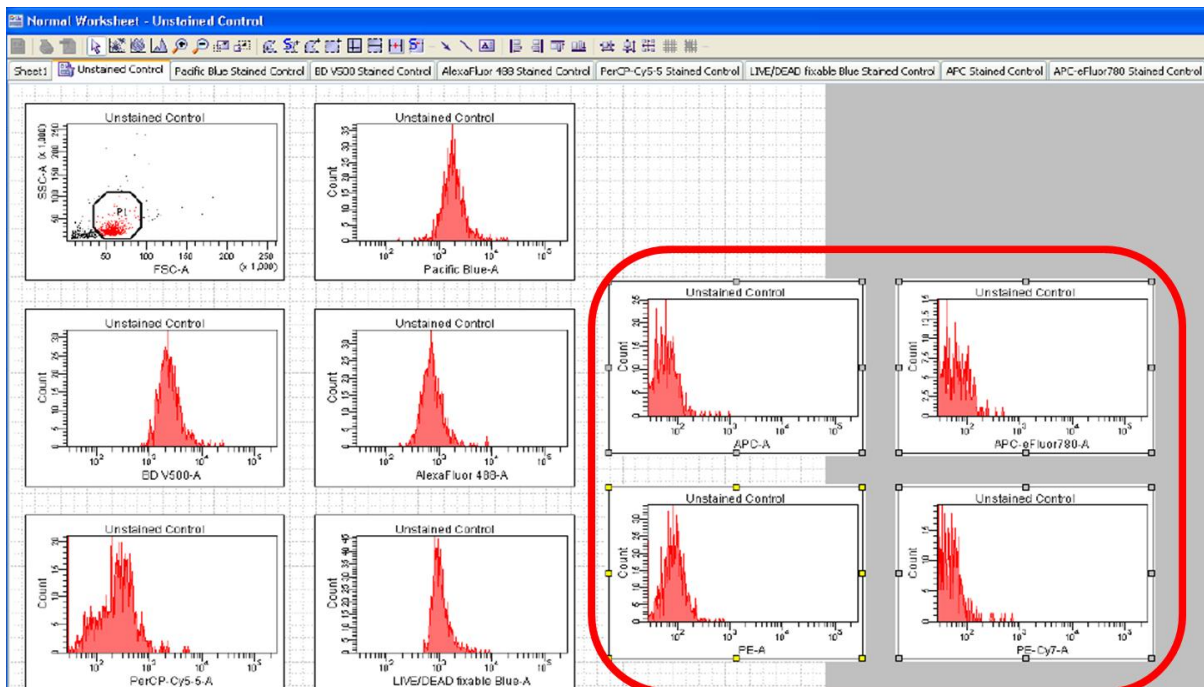


6. Se crea un espécimen donde se incluye los tubos necesarios para correr la compensación y una Normal Worksheet, con los gráficos necesarios para visualizar la adquisición de estos tubos. Así también se corren los controles en la velocidad de flujo médium a través del panel de control y la adquisición para a los 5000 eventos en la ventana del acquisition dashboard

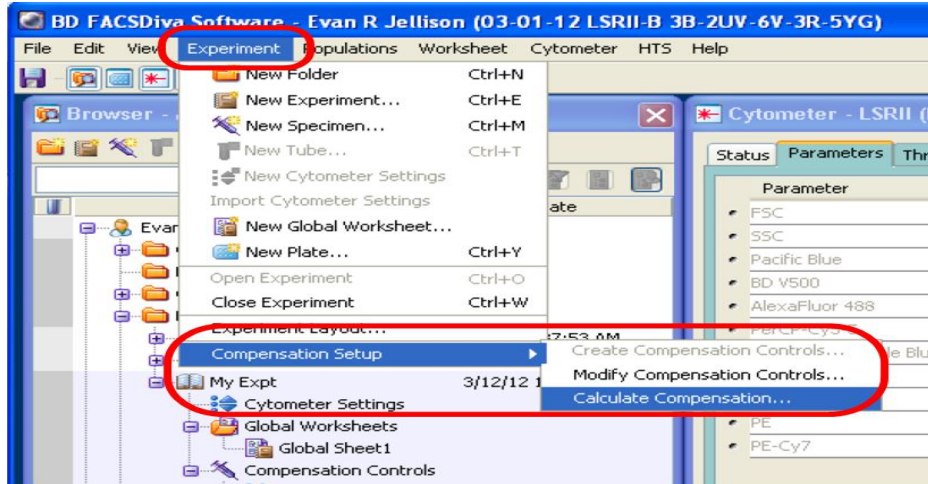




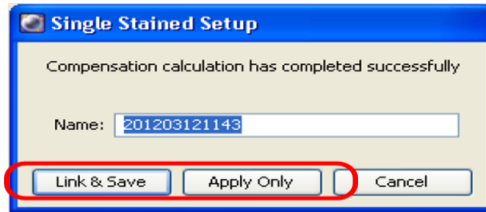
7. Instale el tubo con el control no teñido y mueva el voltaje de FSC y SSC hasta ver el control no teñido y llévelo hasta la región P1, mueva el voltaje de FITC, PE, PerCP y APC si es necesario hasta ver los picos hacia la izquierda como se muestra en el recuadro en rojo. Una vez realizado estos ajustes dar record en el acquisition dashboard y guardar la adquisición del control no teñido.



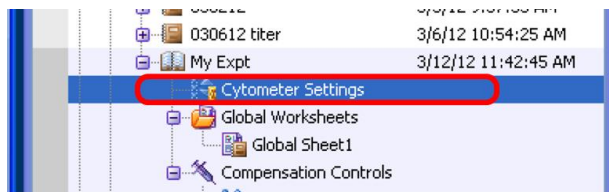
8. En la región P1 seleccionarla con un click derecho y dar la instrucción Apply to all compensation controls.
9. Adquirir el tubo de FITC, PE, PerCP y APC. Una vez terminada la adquisición instalar un tubo de agua desionizada y colocar en **STNBY**.
10. Ir al menú desplegable de Experiment y calcular la compensación como se muestra a continuación.



11. Si todo es correcto el instrumento tardará unos minutos y desplegará el siguiente cuadro de diálogo y por default dará el nombre de la compensación con la fecha con año/mes/día/hora de realización de la misma, coloque el nombre que sea pertinente para Ud. relacionando su experimento. Posteriormente dar Link and Save para unirlo al experimento y guardarlo en el catálogo o bien dar Apply Only si solo se quiere que esta compensación quede sólo para este experimento y sin guardarse en el catálogo.



12. En el Experiment aparecerá en el ícono de Cytometer Settings en el caso de haber aplicado Link and Save una cadena amarilla, en la que se hará hincapié de que existe a estos ajustes del citómetro una compensación.



13. Una vez que se haya realizado la compensación el instrumento estará listo para correr el experimento deseado. Con los ajustes propios del citómetro y una compensación adecuada para el mismo.



## Guía de mantenimiento y operación estándar para el Citómetro de Flujo BD LSRFortessa™

### VI. MANTENIMIENTO

Realizar el procedimiento de mantenimiento como se muestra en la tabla:

Frecuencia	Procedimiento
<b>Diario</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Limpieza del SIP</li><li>• Apagar el instrumento</li></ul>
<b>Exhaustivo</b> (Al menos cada dos semanas, esto depende del uso del instrumento)	<ul style="list-style-type: none"><li>• Limpieza de todas las líneas incluida la celda de flujo.</li></ul>

#### a. LIMPIEZA DIARIA

Este tipo de limpieza previene de taponamiento del SIP y la celda de flujo.

1. Presionar en el panel de control de fluidos en **RUN** y en la velocidad **HI**. Instalar un tubo falcon de 12x 75mm con 3 mL de BD FACS™Clean y dejar el brazo abierto por 1 min (entrará en funcionamiento la bomba peristáltica para limpiar la funda del SIP). Pasado este tiempo cerrar el brazo y correr el resto del contenido del líquido por 5 min (esto limpiará por dentro el SIT).
2. Una vez terminado el ciclo anterior instalar un tubo falcon con 3 mL de BD FACS™ Rinse y repetir el paso 1
3. Al terminar el ciclo con la solución BD FACS™ Rinse, instalar un tubo falcon con 3 mL de agua desionizada, repitiendo de nuevo el paso 1.
4. Dejar un tubo limpio con al menos 1 mL de agua desionizada en el SIP y colocar en **STNDBY**. Este procedimiento puede realizarse cada vez que se termine un determinado experimento o dependiendo si se está corriendo al menos cada 50 muestras.  
NOTA: En caso de utilizar los colorantes que son muy adhesivos al SIP y a la celda de flujo, como son el naranja de tiazole, bromuro de etidio, Hoeschst, DAPI, naranja de acridina o yoduro de propidio, implementar un tubo de 3 mL con Etanol al 70%, como en el paso 1.

#### b. APAGADO DEL INSTRUMENTO.

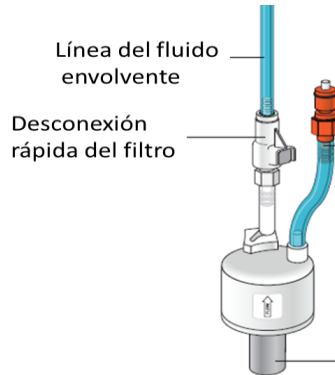
1. Realizar la limpieza diaria del instrumento, como se describe en los pasos anteriores.
2. Dejar el tubo con al menos 1 mL de agua desionizada, cerrar el BD FACSDiva SW, dar shutdown de la Workstation y apagar el instrumento del botón verde colocado en la parte superior derecha.
3. Apagar la UPS.

#### c. LIMPIEZA EXHAUSTIVA.

Esta limpieza elimina debris y contaminantes de todas las líneas del citómetro, desde el fluido envolvente hasta la de desecho, así como la celda de flujo. Realizar esta limpieza exhaustiva al menos cada dos semanas o dependiendo la continuidad alta de muestras adquiridas en el mismo, este procedimiento deberá al menos realizarse una vez a la semana.

Asegúrese que se realice la conexión directa de la línea del fluido envolvente sin el filtro.

**NOTA:** El filtro se rompe por BD FACS™ Clean y BD FACS™ Rinse, por lo que hay que quitarlo, si no se hace este paso al colocar estas soluciones tapan la celda de flujo dañándola irreversiblemente y esta deberá de ser reemplazada.



1. Una vez realizado este paso en el tanque del fluido envolvente reemplazar el BD FACSFlow™ y enjuagar perfectamente el tanque con agua desionizada y posteriormente colocar por al menos 1L de solución de BD FACS™ Clean Vaciar el contenedor de desechos si es necesario.
2. Abrir la llave de purga de la línea y eliminar por al menos 5 segundos un volumen determinado en un recipiente.
3. Dar dos **PRIME** a la celda de flujo para que la solución de BD FACSFlow™ sea reemplazada por BD FACS™ Clean Cambiar el tubo instalado de agua desionizada por uno de 3mL de BD FACS™ Clean.
4. Adquirir este tubo en RUN y HI por 30 minutos.
5. Pasado este tiempo colocar el citómetro en STNDBY. Quitar la línea del aire y despresurizar el tanque a través de la válvula de seguridad.
6. Abrir el tanque y colocar la solución restante en un recipiente y enjuagar perfectamente el BD FACS Clean del tanque con agua desionizada.
7. Cambiar la solución de BD FACS™ Clean ahora por al menos 1L de BD FACS™ Rinse, así como en el SIP un tubo con 3mL de BD FACS™ Rinse. Repetir los pasos 2-6 con esta solución.
8. Cambiar la solución de BD FACS™ Rinse con al menos 1L de agua desionizada, así como en el SIP un tubo con 3 mL de agua desionizada. De nuevo repetir los pasos 2-6 con esta solución.
9. Una vez terminado este proceso de 90 minutos y con el tanque despresurizado (Desconectar la línea verde del aire) volver a instalar el filtro en la línea del fluido envolvente (línea azul). Adicionar BD FACSFlow™ como en el paso 5.1 del inicio del instrumento. Si este no va a ser utilizado apagarlo como se explicó en los pasos 2 y 3 del apagado del instrumento.
10. Desechar los líquidos resultantes de la limpieza exhaustiva del tanque de desechos.