



Enfermedad residual medible en patologías hematológicas. Consenso de expertos, Asociación Colombiana de Hematología y Oncología - 2024

Measurable residual disease in hematological pathologies. Expert consensus. Asociación Colombiana de Hematología y Oncología (ACHO) - 2024.

» Rocio Orduz ^{1 2 3 4 5}



» Javier Rendón Henao ⁶



» Martha Romero ⁷



» Sandra Quijano Gómez ^{8 9 10}



» Isabella Caicedo Ortiz ¹¹



» Liliana Moreno ^{12 4 14 15}



» Roberto Jaramillo ¹⁶



» Cristian David Quintero Múnera ¹⁷



» Vanessa Santiago Pacheco ¹⁸



» Elda Graciela Vélez Colmenares ¹⁹



» Andrea Naranjo ²⁰



» Jorge García Vera ^{21 22 23}



» Nhora María Silva Pérez ²⁴



» Catalina Franco Álzate ²⁵



» Diana Lozano ²⁶



» Wendy Nieto ²⁷



» Alexandra Moreno Aguirre ²⁸



» Virginia Abello ²⁹



» Paola Omaña ²⁹



» Claudia Sosa ^{22 30}



» Kenny Gálvez ³¹



» Carlos Alberto Castro ^{32 15}



¹ Laboratorio Clínico y de Patología.

² Grupo de investigación INPAC.

³ Clínica Colsanitas, Bogotá, Colombia.

⁴ Grupo Keralt, Bogotá, Colombia.

⁵ Asociación Colombiana de Hematología y Oncología - ACHO.

⁶ Ayudas Diagnósticas SURA.

⁷ Hospital Universitario Fundación Santa Fe de Bogotá, Bogotá, Colombia.

⁸ Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

⁹ Fundación Santa Fe de Bogotá, Bogotá, Colombia.

¹⁰ Hospital Universitario San Ignacio, Bogotá, Colombia.

¹¹ Clínica IMBANACO, Cali, Colombia.

¹² Clínica Colsanitas, Bogotá, Colombia.

¹⁴ Hospital de San José, Bogotá, Colombia.

¹⁵ Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud - FUCS, Bogotá, Colombia.

¹⁶ Laboratorio Continental, Barranquilla, Colombia.

¹⁷ Synlab Colombia, Medellín, Colombia.

¹⁸ Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

¹⁹ Unidad Hemato-Oncológica Especializada IPS, Cúcuta, Colombia.

²⁰ Instituto Nacional de Cancerología - INC, Bogotá, Colombia.

²¹ Laboratorio Higuera Escalante, Bucaramanga, Colombia.

²² Clínica FOSCAL, Bucaramanga, Colombia.

²³ Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.

²⁴ Fundación Valle de Lili, Cali, Colombia.

²⁵ Laboratorio Clínico Hematológico, Medellín, Colombia.

²⁶ Clínica Somer, Rionegro, Colombia.

²⁷ Fundación Cardiovascular de Colombia - HIC, Bucaramanga, Colombia.

²⁸ Synlab y Labmédico, Medellín, Colombia.

²⁹ Centro de Tratamiento e Investigación sobre Cáncer - CTIC, Bogotá, Colombia.

³⁰ Universidad Autónoma de Bucaramanga - UNAB, Bucaramanga, Colombia.

³¹ Hospital Pablo Tobón Uribe, Medellín, Colombia.

³² SIIES Consultores SAS.

Recibido el 27 de abril de 2023; aceptado el 11 de octubre de 2023

Doi: <https://doi.org/10.51643/22562915.521>

* **Autor para correspondencia:** Carlos Alberto Castro. SIIES Consultores SAS, Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud - FUCS.

Correo electrónico: siiesconsultoressas@gmail.com

Doi: <https://doi.org/10.51643/22562915.521>

Asociación Colombiana de Hematología y Oncología. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Resumen

Las neoplasias hematolinfoides son consideradas de alto costo y de impacto en la calidad de vida, por esta razón, el uso de pruebas diagnósticas y sobre todo de seguimiento como la cuantificación de la enfermedad mínima residual medible, sigue siendo una herramienta para determinar pronóstico, considerando las nuevas tecnologías y la importancia de estandarizar el procesamiento. **Objetivo:** estructurar una serie de consideraciones por común acuerdo de expertos, sobre la enfermedad medible residual (EMR) en cinco patologías hematológicas, en el contexto colombiano. **Métodos:** se realizó un consenso formal de expertos, mixto (Delphi/Nominal), a partir de 23 preguntas de contexto y relacionadas con la enfermedad medible residual en cinco patologías hematológicas. Se realizaron dos rondas de calificación y una reunión nominal virtual. La información fue analizada en STATA 13. **Resultados:** se construyeron 23 preguntas relacionadas con el seguimiento de la enfermedad medible residual en cinco patologías hematológicas en el contexto de su uso en Colombia. Participaron 17 profesionales de la salud (patología y bacteriología) expertos en enfermedad medible residual por citometría de flujo de Bogotá, Medellín, Cali, Bucaramanga, Cartagena, Rionegro, Barranquilla y Cúcuta liderados por la Asociación Colombiana de Hematología y Oncología - ACHO. **Conclusiones:** se definieron 23 consideraciones que orientan el uso de la citometría de flujo para realizar la enfermedad medible residual en cinco patologías hematológicas, y para hacer un diagnóstico del contexto de esta prueba en Colombia. Finalmente, este consenso pretende homogeneizar las técnicas de citometría y las conductas clínicas de los hemato-oncólogos, esperando mejorar la toma de decisiones según esta medición, para el bienestar de los pacientes.

Palabras clave: enfermedad residual mínima; citometría de flujo; neoplasias hematológicas; consenso.

Abstract

The hematolymphoid neoplasms are considered to be of high cost and have an impact on quality of life, for this reason the use of diagnostic and tests for follow-up such as Measurable Residual Disease (MRD) continues to be a tool to determine prognoses, considering new technologies and the importance of standardizing processing. **Objective:** To structure a series of considerations by common agreement of experts about Measurable Residual Disease in 5 hematological pathologies, in the Colombian context. **Methods:** A formal consensus of experts, mixed (Delphi/Nominal), was made from 23 context questions related to Measurable Residual Disease in 5 hematological pathologies. 2 qualifying rounds and a virtual nominal meeting were held. The information was analyzed in STATA 13. **Results:** 23 questions related to the diagnosis of Measurable Residual Disease in 5 hematological pathologies were constructed in the context of its use in Colombia. 17 health professionals (pathology and bacteriology) experts in Measurable Residual Disease by flow cytometry from Bogotá, Medellín, Cali, Bucaramanga, Cartagena, Rionegro, Barranquilla and Cúcuta participated and it was leading by the Colombian Association of Hematology and Oncology (ACHO). **Conclusions:** 23 considerations were defined to guide the use of flow cytometry for Measurable Residual Disease in 5 hematological pathologies, as well as to make a diagnosis of the context of this test in Colombia. Finally, this consensus aims to standardize this technique as well standardize clinical conducts

between hemato-oncologists hoping to improve the decisions that are taken because this measurement in order to improve health's patients.

Keywords: neoplasm; residual; flow cytometry; hematologic neoplasms; consensus.

Introducción

Las neoplasias hematológicas son una serie de patologías malignas que se caracterizan por la alteración en los mecanismos de crecimiento, diferenciación y muerte celular. En este grupo de enfermedades se encuentran las leucemias agudas, linfomas T, B, linfoma de Hodgkin, neoplasias de células plasmáticas incluido el mieloma múltiple, neoplasias de células histiocíticas/dendríticas, como también las neoplasias mieloproliferativas crónicas y mielodisplásicas.^{1,2} La incidencia de patologías neoplásicas de origen hematológico según GLOBOCAN para 2022 (leucemia, mieloma múltiple, linfoma Hodgkin y no Hodgkin) sumó 1.311.104 casos y, para Latinoamérica y el Caribe, este mismo grupo de patologías sumó 109.154 casos en el mismo año. En Colombia se ha estimado una tasa cruda por 100.000 habitantes de leucemia de 6.6 casos, mieloma múltiple 2.6, linfoma Hodgkin 1.4 casos y no Hodgkin 7.5 casos.³ Según la Cuenta de Alto Costo de Colombia se presentaron para el 2022, 6357 casos nuevos de leucemias, de las cuales el 35.2 % corresponde a leucemia agudas, mientras que para los linfomas no Hodgkin (LNH) se presentaron 18.622 casos y de linfomas Hodgkin (LH) 4884 casos.⁴

La determinación de enfermedad medible residual (EMR) por citometría de flujo multiparamétrica hace parte del seguimiento del tratamiento de las neoplasias hematológicas, y hace referencia a la persistencia de células residuales neoplásicas usualmente sin síntomas o subclínico, posterior al tratamiento instaurado y logrando la remisión morfológica de la neoplasia. La presencia de EMR o EMR+ (positiva) da a lugar a la definición de riesgo y determina

el pronóstico del paciente.^{5,6,7} Para llevar a cabo la detección de la EMR se encuentran las técnicas de citometría de flujo multiparamétrica y la biología molecular (secuenciación de última generación siglas en inglés NGS o por oligonucleótido alelo específico PCR ASO-PCR), teniendo una sensibilidad mayor las pruebas moleculares, sobre la citometría de flujo convencional. El consorcio EuroFlow ha desarrollado nuevos paneles de anticuerpos y sistemas basados en lisis pesada (*Bulk Lysis*) para obtener más de 4 millones de eventos en leucemia linfoblástica aguda B y más de 5 a 10 millones de eventos en mieloma múltiple, lo cual iguala la sensibilidad de los estudios de la biología molecular 10⁻⁵ y 10⁻⁶ respectivamente, y es denominada citometría de flujo de nueva generación (NGF) por sus siglas en inglés.^{2,6-9} La EMR se considera positiva en leucemia linfoblástica aguda B y T igual o mayor a 0.01 %, y en MM a la detección de células plasmáticas aberrantes, clonales que estén en un valor igual o mayor al límite de detección y en LMA 0.1 %, siendo en todos los casos un predictor de riesgo de recidiva, permitiendo identificar mayor o menor riesgo de recurrencia de la neoplasia.^{5,6,10} De todas maneras, es importante anotar que en el caso del mieloma múltiple se usa la combinación de la medición de la EMR por citometría de flujo en médula ósea, con los estudios de imágenes de tipo PET-CT.

Actualmente las nuevas tecnologías han permitido mejorar el diagnóstico de las neoplasias hematolinfoides, lo cual implica entrenamiento, actualización y estandarización, obligando al reconocimiento de las pruebas moleculares y de genética. Entre estas técnicas se encuentran el cariotipo, biochips, reacción en cadena de polimerasa (PCR), hibridación fluorescente *in situ*

(FISH), secuenciación de Sanger y secuenciación masiva, entre otras. El uso de estas nuevas tecnologías implica un impacto en las terapias dirigidas e inmunoterapias que han demostrado cambios en el pronóstico de los pacientes, específicamente en la supervivencia global y libre de evento.^{2,11}

Por último, este manuscrito surge de una iniciativa científica y académica, que no implica regulación alguna, sin embargo, sí es un documento orientador que permite estandarizar procesos, esperando hacer un adecuado seguimiento con la técnica de EMR en cualquier parte del territorio nacional, lo cual se soporta en la evidencia y en la experiencia de los participantes de este consenso. De la misma forma, se espera que a corto o mediano plazo, con las nuevas estrategias terapéuticas y la identificación de nuevos marcadores, este consenso se actualice.

De acuerdo a lo anterior, el objetivo de este estudio es describir las características estructurales y operativas de los servicios de patología donde se realiza diagnóstico de enfermedades hematológicas, así como consensuar por común acuerdo de expertos, una serie de consideraciones sobre los procedimientos e indicaciones en el manejo de la EMR en cinco patologías hematológicas, de acuerdo al contexto colombiano.

Materiales y métodos

Se llevó a cabo un consenso formal de expertos, con la participación de profesionales en hematopatología, patología y citometría de flujo. Se estructuró un grupo desarrollador conformado por dos hematopatólogos y un epidemiólogo. Participaron 17 patólogos entrenados y expertos en hematopatología, quienes en su práctica clínica usan la EMR como parte del seguimiento en neoplasias hematológicas. Estos expertos laboran en las ciudades de Bogotá, Medellín, Bucaramanga, Rionegro, Cali, Cúcuta, Barranquilla y Cartagena, y cuentan un promedio de experiencia de 12.2 años.

El grupo desarrollador responsable de estructurar una serie de preguntas y opciones de respuesta, construyó las preguntas teniendo en cuenta el contexto colombiano. Para esto, se consideraron los escenarios donde se identificaban barreras o variabilidad en la práctica que podrían afectar el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de pacientes con las patologías hematológicas. Además, se tuvieron en cuenta las guías de práctica clínica de diagnóstico y tratamiento de patología hematológicas nacionales e internacionales, así como literatura relacionada, resultado de una búsqueda ampliada no sistemática en bases de datos biomédicas. Adicionalmente y como se mencionó, la justificación de las preguntas se fundamentó de acuerdo a la importancia en la práctica clínica, pretendiendo homogeneizar su indicación y procedimiento, esperando unificar conductas basadas en la experiencia y en la literatura relevante, teniendo en cuenta el contexto del sistema de salud colombiano. Con el objetivo de verificar la coherencia de la información que se presenta en este consenso, el grupo desarrollador invitó a cuatro hematólogos expertos en cada patología hematológica, quienes evaluaron la pertinencia de las preguntas y la descripción de las características de los centros de trabajo de los expertos hematopatólogos.

Como parte del desarrollo del consenso se tuvo en cuenta la metodología Delphi, herramienta que utiliza rondas para recolectar información a partir de un panel de expertos y se fundamenta en el anonimato de su participación. Adicionalmente se utilizó la técnica de grupo nominal para discutir abiertamente las posiciones no consensuadas o con una variabilidad que no se logró consensuar en las fases de calificación anónima.^{12,13}

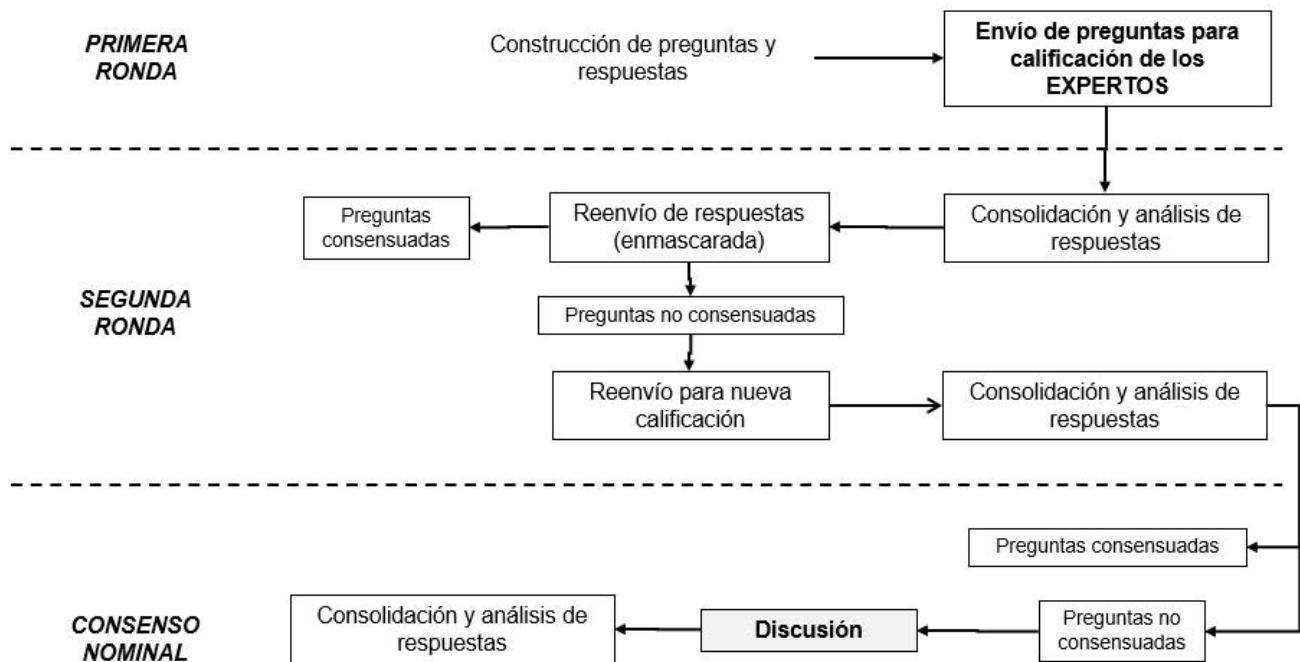
Para calificar las opciones de cada pregunta se utilizó una escala de 1 a 9, donde 1 se consideró como lo más inapropiado o lo que no se reali-

zaría en la práctica clínica, y 9 lo más apropiado o lo que se realizaría como primera opción en la práctica clínica. Se calcularon las medianas y rangos intercuartílicos (RIQ) para conocer la dispersión de las calificaciones. Se definió consenso cuando la mediana resultaba entre 1 a 3 con

RIQ entre 1 a 3, y mediana de 7 a 9 con RIQ entre 7 y 9. Teniendo en cuenta este procedimiento, se elaboró una matriz para consolidar los datos. Las preguntas y las opciones fueron construidas y enviadas por medio de Formularios de Google de manera remota (Figura 1).

Figura 1.

Procedimiento metodológico y de ejecución del consenso de expertos



Primera ronda: el grupo desarrollador envió el cuestionario, el cual fue calificado por los expertos; posteriormente la información fue consolidada y analizada. Se identificaron las opciones consensuadas, y las no consensuadas pasaron a la segunda ronda de calificación.

Segunda ronda: se construyó una matriz que evidenciaba los resultados de la primera ronda, donde también se incluyeron los comentarios hechos por los expertos como parte de la calificación. Esta matriz fue enviada a los expertos de manera enmascarada con el fin de retroalimentar a todo el grupo. De la misma forma, se

envió el formulario con las preguntas no consensuadas con el objetivo de reevaluar las calificaciones teniendo en cuenta la retroalimentación. Una vez recibidas las calificaciones de esta ronda, se consolidó la información y lo no consensuado pasó a discusión en el consenso nominal.

Consenso nominal: el grupo desarrollador convocó a los expertos a una reunión virtual para discutir las preguntas y opciones no consensuadas, con el objetivo de conocer las diferentes posiciones y lograr un consenso. En esta etapa, durante la sesión abierta el grupo desarrollador

determinó el número de expertos que estaba a favor o en contra de consensuar cada opción de las preguntas del total de los expertos participantes, definiendo consenso cuando el porcentaje era superior al 80 %. Para las dos rondas y el consenso nominal, el grupo desarrollador verificó la participación de los expertos en las tres fases.

El grupo desarrollador determinó para este consenso las siguientes patologías hematológicas, considerando las más relevantes y de mayor frecuencia en el uso de la EMR para su seguimiento: leucemia linfoblástica aguda B (LLA-B), leucemia linfoblástica T (LLA-T), leucemia mieloide aguda (LMA), mieloma múltiple (MM) y leucemia linfocítica crónica B (LLC-B).

A continuación se presentan las preguntas definidas por el grupo desarrollador:

- P1. ¿Qué citómetro utiliza?
- P2. ¿Qué software utiliza para analizar las citometrías de flujo?
- P3. ¿Considera que se requieren cursos de actualización para la evaluación de la EMR?
- P4. ¿Cuál debería ser el periodo de actualización?
- P5. ¿Realiza la EMR por Next Generation Flow (EuroFlow) para las siguientes neoplasias?
- P6. ¿Utiliza la base de datos de EuroFlow para confirmar la detección de EMR en LLA-B?
- P7. ¿Utiliza la base de datos de EuroFlow para confirmar la detección de EMR en Mieloma múltiple?
- P8. La detección de la EMR por citometría de flujo convencional en MO es importante como factor pronóstico individual para:
- P9. ¿Considera que la concentración celular con el sistema de lisis pesada (Bulk Lysis, EuroFlow) está indicada en la medición de la EMR en estas neoplasias?
- P10. ¿Conocer el inmunofenotipo en el momento del diagnóstico es relevante para el estudio de la EMR?
- P11. ¿Es relevante que la EMR sea realizada

en la misma institución en donde se hizo el diagnóstico?

P12. ¿El conocimiento del esquema de tratamiento (especialmente el uso de anticuerpos monoclonales) y su fase, en cada paciente, es relevante para el correcto análisis de la EMR?

P13. ¿El uso de anticuerpos específicos como CD22 o CD24 para el análisis de la EMR en LLA-B en pacientes con terapias dirigidas Anti-CD19 (blinatumumab) o CAR-T Cell Anti-CD19, da ventajas en la búsqueda de la EMR?

P14. ¿El uso de anticuerpos específicos como CD38 multiepitope para el análisis de EMR en el mieloma múltiple, en pacientes con terapias dirigidas Anti-CD38, da ventajas en la búsqueda de EMR?

P15. ¿El uso de esquemas de tratamiento con Anti-CD20 en la LLA-B y LLC-B, hace que modifique la estrategia de análisis en la EMR?

P16. ¿En LMA con alteraciones genéticas recurrentes con transcripto medible (PML/RARA, NMP1, CBFB-MYH11 [inv16], RUNX1-RUNX1T1 [t8;21]), por biología molecular, es relevante el seguimiento de EMR por citometría de flujo?

P17. ¿Qué importancia tienen los siguientes marcadores para el panel EMR en la LLA-B?

P18. Con respecto al contenido del reporte en la EMR de LLA-B, califique la importancia de los siguientes aspectos: número de eventos adquiridos y estudiados (células nucleadas), dilución con sangre periférica, detección de blastos y cuantificación, fase de tratamiento, límite de detección y límite de cuantificación.

P19. Califique la importancia de los siguientes marcadores para la detección de la EMR en mieloma múltiple:

P20. ¿Qué debe incluir el reporte de EMR de MM?

P21. ¿Considera importante tener controles de calidad externos para la EMR?

P22. ¿Está de acuerdo que en EMR de LMA se deben analizar de 500.000 a 1.000.000 de eventos con al menos ocho colores y usando estrategias de análisis que usen tanto los

inmunofenotipos aberrantes asociados a leucemia (LAIP en inglés), así como los inmunofenotipos diferentes de lo normal (DFN en inglés)?

P23. ¿Está de acuerdo con que aún no hay información clara y estandarizada sobre cómo hacer la EMR en LLC-B?

Resultados

El grupo desarrollador estructuró 23 preguntas teniendo en cuenta el contexto colombiano, identificando la heterogeneidad en la práctica y considerando lo más relevante para reafirmar la buena práctica según la normatividad y evidencia actual. Se presenta a continuación una descripción de las condiciones estructurales y operativas de los diferentes centros, los cuales en su mayoría son centros de referencia para estas patologías.

Características y condiciones de los servicios de patología y laboratorios

Los resultados que se presentan a continuación muestran el estado actual de los servicios de patología y laboratorios de citometría donde se realiza el procesamiento de muestras para el diagnóstico de EMR (Tablas 1 y 2).

Para las preguntas se tuvieron en cuenta los siguientes parámetros:

- Tipo de muestra: aspirado de médula ósea para leucemias agudas y mieloma múltiple. Sangre periférica en LLC-B.
- Cantidad de la muestra: 2-5 cc o mililitros para todos los casos.
- Anti-coagulante: EDTA (tubo tapa lila) aunque cualquier anticoagulante puede ser usado.
- Temperatura: temperatura ambiente de laboratorio y/o refrigerado (4-15 °C).

- Tiempo para el procesamiento desde la recolección: ideal menos de 48 horas. No superior a tres días.
- También se recomienda que para el estudio de EMR se envíe el primer aspirado de médula ósea para evitar hemodilución. En caso de remitir más de un tubo se recomienda enumerarlos para conocer cuáles son los primeros aspirados.

Preguntas y consideraciones

P8. La detección de EMR por citometría de flujo convencional en MO es importante como factor pronóstico individual para:

- Leucemia linfoblástica B
- Leucemia linfoblástica T
- Leucemia mieloide aguda
- Mieloma múltiple
- Leucemia linfocítica crónica B

Se considera que la realización de EMR convencional es de valor pronóstico individual para las cinco patologías. También se sugiere incorporar la NGF teniendo en cuenta su mayor sensibilidad y especificidad respecto a la citometría de flujo convencional, la cual puede tener un 30 % de falsos negativos.

La EMR evaluada por citometría de flujo es una excelente prueba diagnóstica para predecir la supervivencia libre de recaída, supervivencia total y apoyo a la definición de tratamiento. La detección de EMR antes del trasplante alogénico, se asocia con incremento en el riesgo de recaída postrasplante. Asimismo, la citometría de flujo convencional debe acompañarse con pruebas de nueva generación, teniendo en cuenta la probabilidad de falsos negativos.

Tabla 1.

Equipos y recursos para citometría de flujo – EMR

Pregunta	n (%)
P1. ¿Qué citómetro utiliza?	
Lyric	7 (41.1)
FACSCanto II	8 (47)
Lyric y FACSCanto II	1 (5.8)
Navios	1 (5.8)
P2. ¿Qué software utiliza para analizar las citometrías de flujo?	
Infinicyt versión 2.0	16 (94.1)
Kaluza	1 (5.8)
P3. ¿Considera que se requieren cursos de actualización para la evaluación de EMR?	
Si	17 (100)
P4. ¿Cuál debería ser el periodo de actualización?	
Bimestral	1 (5.8)
Trimestral	1 (5.8)
Semestral	2 (11.7)
Anual	13 (76.4)

Tabla 2.

Condiciones de procesamiento para LLA-B y MM

Pregunta	n (%)
P5. ¿Realiza la EMR por Next Generation Flow (EuroFlow) para las siguientes neoplasias?	
Leucemia linfoblástica aguda B (n=17)	10 (58.8)
Mieloma múltiple (n=17)	10 (58.8)
Leucemia linfoblástica aguda B	
P6. ¿Utiliza la base de datos de EuroFlow para confirmar la detección de EMR? (n=17)	
Eventos que adquieren en su centro de rutina para EMR	
Menor o igual a 1.000.000	2 (11.7)
Entre 1.000.001 y 4.000.000	5 (29.4)
Mayor o igual a 4.000.001	10 (58.8)
Mieloma múltiple	
P7. ¿Utiliza la base de datos de EuroFlow para confirmar la detección de EMR? (n=17)	
Eventos que adquieren en su centro de rutina para EMR	
Menor o igual a 1.000.000	2 (11.7)
Entre 1.000.001 y 5.000.000	4 (23.5)
Entre 5.000.001 y 10.000.000	8 (47)
Mayor o igual a 10.000.001	3 (17.6)

Para el caso de la LLA-B, la EMR se asocia con la definición de riesgo de recaída y beneficio de trasplante de médula ósea. En LLC se correlaciona con mejores o peores desenlaces clínicos, sin embargo, no hace parte de la práctica clínica habitual y no modifica el tratamiento, pero sí contribuye a determinar pronóstico en supervivencia, y probablemente en el futuro será de uso rutinario para la toma de decisiones.¹² En MM, la EMR negativa se asocia con mejor supervivencia.^{8,12, 14-17}

Adicionalmente, es importante mencionar que el rol del hematólogo como médico tratante en la interpretación de la EMR para definir una conducta clínica, motivó al grupo desarrollador a incluirlos en este consenso, por lo cual fueron invitados cuatro hematólogos expertos en las diferentes patologías y miembros de número de la ACHO, encontrando las consideraciones que se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3.
Uso de la EMR para el tratamiento y seguimiento por hematólogos

¿En qué momento considera importante medir EMR?						
Patología	Al final de la inducción	Al final de la	Al inicio del mantenimiento	Antes del	Después del trasplante	
LLA-B	X	X		X	X	
LLC	X					
MM			X	X	X	
LMA	X	X		X	X	
¿En qué momento usa la medición de EMR para tomar decisiones?						
Patología	Al final de la inducción	Al final de la	Al inicio del mantenimiento	Antes del	Después del trasplante	Nunca
LLA-B	X			X		
LLC						X
MM					X	
LMA	X	X	X	X	X	

P9. ¿Considera que la concentración celular con el sistema de lisis pesada (Bulk Lysis, EuroFlow) está indicada en la medición de EMR en estas neoplasias?

- Leucemia linfoblástica B.
- Leucemia linfoblástica T.
- Leucemia mieloide aguda.
- Mieloma múltiple.
- Leucemia linfocítica crónica B.

Se considera que: la concentración celular con

el sistema de lisis pesada se indica para las cinco patologías.

Para el caso de LLA-B dependiendo de la celularidad de la muestra podría o no realizarse el procedimiento Bulk Lysis y alcanzar el límite inferior de cuantificación (0.001 % o 1×10^{-5}). En los casos de LLC, la monitorización no se ha realizado en sangre periférica sino en MO, con un límite inferior de cuantificación de 0.01 % (1×10^{-4}). Si se realiza en sangre periférica se sugeriría conside-

rar Bulk Lysis según el recuento de leucocitos. Es importante su uso, teniendo en cuenta que al momento de lisar se incrementa la sensibilidad específicamente en la fase preanalítica, con evidente mejora en términos de profundidad en la medición de EMR.^{8,18-20}

P10. ¿Conocer el inmunofenotipo en el momento del diagnóstico es relevante para el estudio de la EMR?

- Leucemia linfoblástica B.
- Leucemia linfoblástica T.
- Leucemia mieloide aguda.
- Mieloma múltiple.
- Leucemia linfóide crónica B.

Se considera que: el inmunofenotipo en el momento del diagnóstico es relevante para la EMR en las cinco patologías.

Conocer las características inmunofenotípicas originales mejora la búsqueda de clonas residuales anormales, lo cual es más complejo en casos de LMA. Es claro que los fenotipos aberrantes asociados a leucemia (LAP Markers), contribuyen a la discriminación entre precursores normales (hematogonias) vs. malignos. También, algunas alteraciones moleculares se asocian con patrones específicos de expresión antigénica. De forma particular se reporta que las LLA en recaída el 60-100 % de los casos permanece ≥ 1 LAP. En LMA en recaída: 75-100 % de los casos permanece ≥ 1 LAP.^{10,18,20,21}

Se considera que no conocer el inmunofenotipo original o del diagnóstico no impide la realización de la prueba. De hecho, es una de las ventajas de la Flow-MRD (EMR) respecto al estudio de EMR por biología molecular.

P11. ¿Es relevante que la EMR sea realizada en la misma institución en donde se hizo el diagnóstico?

- Leucemia linfoblástica B.
- Leucemia linfoblástica T.
- Leucemia mieloide aguda.

- Mieloma múltiple.
- Leucemia linfóide crónica B.

Se considera que: la EMR preferiblemente debe realizarse en la misma institución donde se hace el diagnóstico o que se tenga certeza que el lugar de remisión sea un servicio o laboratorio con procedimientos estandarizados, en las cinco patologías.

A pesar de que no es una condición, es relevante porque en algunos casos al no conocer los fenotipos asociados a la leucemia (fenotipo del diagnóstico), su análisis se hace más complejo. Por esta razón, la muestra remitida a otra institución debe llevar la información del inmunofenotipo original y preferiblemente debe ser remitida a un lugar que cuente con citometría de flujo estandarizada.

Es importante mencionar que al estandarizar los procesos en todo el país como el ejemplo que nos ha dado el consorcio EuroFlow en Europa, sirve para que en un futuro próximo las muestras puedan procesarse y analizarse de igual manera en cualquier lugar y obteniendo el mismo resultado.²²

P12. ¿El conocimiento del esquema de tratamiento (especialmente el uso de anticuerpos monoclonales) y su fase, en cada paciente, es relevante para el correcto análisis de la EMR?

- Leucemia linfoblástica B.
- Leucemia linfoblástica T.
- Leucemia mieloide aguda.
- Mieloma múltiple.
- Leucemia linfóide crónica B.

Se considera que:

- Es relevante conocer el esquema de tratamiento en cada fase para el análisis de la EMR en LLA-B, MM y LLC-B.
- No es relevante para LLA-T y LMA.

Es importante conocer el empleo de anticuerpos (Ejemplo: anti-CD19, anti-CD20, anti-CD38)

como tratamientos dirigidos hacia antígenos de superficie de las células tumorales y normales, para poder hacer el análisis adecuado con la verificación de otros antígenos que expresan las células malignas residuales o los mismos antígenos, pero detectados por otros anticuerpos que identifican epítopes diferentes. En las LLA-T la detección de células con características inmunofenotípicas asociadas a células T inmaduras en sangre periférica y en médula ósea generalmente indica EMR positiva.²³

En el caso de MM, actualmente se puede acceder al kit de EMR que incluye el anticuerpo anti-CD38 multiepítotope, que precisamente puede detectar células tumorales residuales a pesar del uso del tratamiento anti-CD38 como terapia dirigida en estos pacientes. Por citometría de flujo convencional se cuenta con el anticuerpo anti-CD138, que nos ayuda por el momento a detectar junto con todo el panel de EMR, las células plasmáticas neoplásicas residuales.^{10,24} Los centros que no tienen la posibilidad de utilizar el anti-CD38 multiepítotope deben conocer el esquema de tratamiento (uso de daratumumab u otros anticuerpos monoclonales anti-CD38) para el análisis de la EMR.

P13. ¿El uso de anticuerpos específicos como CD22 o CD24 para el análisis de la EMR en LLA-B en pacientes con terapias dirigidas Anti-CD19 (blinatumumab) o CAR-T Cell Anti-CD19, da ventajas en la búsqueda de la EMR?

Se considera que: el uso de anticuerpos CD22, CD24 en LLA-B con terapias dirigidas Anti-CD19 (blinatumumab) o CAR-T Cell Anti-CD19 son relevantes y dan ventajas en el análisis y búsqueda de EMR.

El marcador CD22 puede ser muy útil para seleccionar la población de blastos en conjunto con CD34 y CD10 para estos casos donde los epítopes de CD19 se enmascaran, y para la distinción

de blastos de células que hacen parte de la población residual normal. Adicionalmente, otra estrategia para identificar EMR se fundamenta en detectar “inmunofenotipos diferentes a lo normal” y la combinación de anticuerpos más empleada consiste en CD10/TdT, CD10/CD20, CD38/CD34, CD34/CD22, CD34/CD45, y el marcador CD24 también ayuda a distinguir células B inmaduras (CD24++/CD38++).²³

P14. ¿El uso de anticuerpos específicos como CD38 multiepítotope para el análisis de EMR en el mieloma múltiple, en pacientes con terapias dirigidas Anti-CD38, da ventajas en la búsqueda de EMR?

Se considera que: el uso de anticuerpos específicos (CD38 multiepítotope) en pacientes con MM y con terapia dirigida anti-CD38 da ventajas para el análisis y búsqueda en EMR.

En los casos en los que no se disponga de anti-CD38 multiepítotope se puede emplear la combinación entre CD138 y CD229, ya que el marcador CD229 permanece estable en todas las poblaciones de células plasmáticas.^{18,20,24}

P15. ¿El uso de esquemas de tratamiento con Anti-CD20 en la LLA-B y LLC-B hace que modifique la estrategia de análisis en la EMR?

Se considera que: el uso de esquemas de tratamiento con anti-CD20 en la LLA-B y LLC-B, hace que modifique la estrategia de análisis en la EMR.

Es importante conocer el esquema de tratamiento en pacientes que reciben terapias anti-CD20 como rituximab, e incluir otros marcadores B como CD19 y CD22 para verificar la presencia de células B CD19+/CD20- maduras o inmaduras neoplásicas, o si estas están depletadas (ausencia de células B). La estrategia de selección se modifica según el caso (por ejemplo: LLA-B: CD34+/CD10+/CD19+ más marcadores

LAP y en LLC-B células CD19+ dim/CD5+/CD45+).

P16. ¿En LMA con alteraciones genéticas recurrentes con transcripto medible (PML/RARA, NPM1, CBFB-MYH11 [inv16], RUNX1-RUNX1T1 [t8;21]), por biología molecular, es relevante el seguimiento de EMR por citometría de flujo?

Se considera que: en LMA conocer las alteraciones genéticas recurrentes con transcripto medible (PML/RARA, NPM1, CBFB-MYH11 [inv16], RUNX1-RUNX1T1 [t8;21]) por biología molecular, es relevante en el seguimiento de EMR por citometría de flujo, aunque es importante mencionar que esta se debe realizar a pesar de no conocer las alteraciones genéticas (disponibilidad de biología molecular) teniendo en cuenta los tiempos de los resultados que son más rápidos por citometría y considerando el contexto colombiano.

Para estos casos se verifican los fenotipos LAP descritos de manera particular para estas anomalías cromosómicas/genéticas. PML/RARA: promielocitos CD117+/CD33+/CD15- o dim o CD56+ en el 20 % de los casos. RUNX1-RUNX1T1: buscar blastos CD34+/CD117+/CD15+ con fenotipo LAP CD19+ dim, cyCD79a+ dim, CD56+. NPM1 mutado: blastos CD117+/CD123+. Fenotipo LAP: CD33+, CD13+ dim, HLA-DR-. Si coexisten blastos MPM1+ y FLT3/ITD + el fenotipo LAP es CD34+/CD25+/CD123+. ^{21,25-27}

P17. ¿Qué importancia tienen los siguientes marcadores para el panel EMR en la LLA-B?

- CD45
- CD19
- CD10
- CD20
- CD22
- CD34
- CD38
- CD123
- CD66c
- CD73

- CD304
- CD81
- CD9 ML13
- CD24
- CD21
- CD58
- TDT
- CD13
- CD15
- NG-2

Se considera que:

- Son relevantes los siguientes marcadores para el panel del EMR en LLA-B: CD45, CD19, CD10, CD20, CD22, CD34, CD38, CD123, CD66c, CD73, CD304, CD81.
- Los siguientes marcadores CD9, ML13, CD24, CD21, CD58, TDT, CD13, CD15, NG-2, debe ser específicos en casos especiales.

Es importante mencionar que la mayoría de los marcadores si bien son importantes en el diagnóstico inicial debido a que su expresión está asociada a ciertas alteraciones citogenéticas, no son de gran importancia para la realización de la EMR.

P18. Con respecto al contenido del reporte en la EMR de LLA-B, califique la importancia de los siguientes aspectos.

- Número de eventos adquiridos y estudiados (células nucleadas).
- Dilución con sangre periférica.
- Detección de blastos y cuantificación.
- Fase de tratamiento.
- Límite de detección.
- Límite de cuantificación.

Se considera que:

- El contenido del reporte de EMR en LLA-B debe tener los siguientes aspectos: número de eventos adquiridos y estudiados (células nucleadas), dilución con sangre periférica, detección de blastos y cuantificación, fase de tratamiento, límite inferior de detección

y límite inferior de cuantificación.

- Adicionalmente deben tenerse en cuenta los siguientes parámetros:
- Los límites se reportan si se realiza Bulk Lysis.
- La viabilidad depende de la fecha y hora de la adquisición.
- El inmunofenotipo de la población de blastos detectada.
- La ausencia en la expresión de marcadores asociada al uso de terapia con anticuerpos monoclonales.

En la práctica clínica es importante que el hematólogo conozca el tiempo de procesamiento de la muestra entre la toma y la adquisición, sobre todo en sitios donde se reciben de otras ciudades.

P19. Califique la importancia de los siguientes marcadores para la detección de la EMR en mieloma múltiple:

- CD45
- CD138
- CD38
- CD38 multiepítotope
- CD56
- CD19
- CD81
- CD117
- Lambda intracitoplasmático
- Kappa intracitoplasmático
- CD27
- CD229

Se considera que: es importante realizar los siguientes marcadores para la detección de EMR en MM: CD45, CD138, CD38, CD38 multiepítotope, CD56, CD19, CD81, CD117, Lambda (intracitoplasma), Kappa (intracitoplasma), CD27 y CD229.

Es importante mencionar que como la mayoría de los centros no tienen la disponibilidad de biología molecular en MM para la EMR, se considera que por citometría de flujo se pueden tener todos los marcadores para la detección de EMR

en MM.²⁸

En el caso en que se puedan utilizar el CD45, CD138, CD38, CD38 multiepítotope, CD56, CD19, CD81, CD117, Lambda intracitoplasmático, Kappa intracitoplasmático, CD27, no sería necesario el uso de CD229 (excepto en los pacientes que tiene terapia con CAR-T Cell). En el caso en que se tenga panel de citometría de nueva generación, no es necesario el uso de CD38 multiepítotope.^{18,20}

Sabemos que el CD38 multiepítotope tiene importancia para emplearse en pacientes con terapia anti-CD38; el CD38 normal podría emplearse también en pacientes con terapia anti-CD38, pero con otras estrategias de análisis o emplearse en quienes no están bajo terapia anti-CD38. De la misma forma tiene importancia en pacientes que han recibido terapia dirigida CAR-T Cells.

^{29,30}

P20. ¿Qué debe incluir el reporte de EMR de MM?

- Número de eventos nucleados adquiridos y estudiados en cada tubo.
- Presencia de hemodilución.
- Esquema de tratamiento.
- Receptor de trasplante de médula ósea y fecha.
- Fase de tratamiento.
- Detección de EMR y cuantificación.
- Límite inferior de detección.
- Límite inferior de cuantificación.

Se considera que: es importante incluir los siguientes parámetros en el reporte de EMR en MM; número de eventos nucleados adquiridos y estudiados en cada tubo, presencia de hemodilución, esquema de tratamiento, receptor de trasplante de médula ósea y fecha, fase de tratamiento, detección de EMR y cuantificación límite inferior de detección y límite inferior de cuantificación.

Es importante tener en cuenta:

- Para el ítem de límite inferior de cuantificación y detección, este debe reportarse en porcentaje (o puede ser comparado con la literatura: 10-6).
- Con respecto a la presencia de hemodilución, es relevante teniendo en cuenta la búsqueda y reporte de mastocitos, precursores B, precursores eritroides y precursores mieloides.

P21. ¿Considera importante tener controles de calidad externos para la EMR?

Se considera que: es importante tener los controles de calidad externos para EMR.

Para el procesamiento de la EMR los controles de calidad externos mejoran los procesos de análisis y selección de poblaciones.

P22. ¿Está de acuerdo que en EMR de LMA se deben analizar de 500.000 a 1.000.000 de eventos con al menos ocho colores y usando estrategias de análisis que usen tanto los inmunofenotipos aberrantes asociados a leucemia (LAIP en inglés), así como los inmunofenotipos diferentes de lo normal (DFN en inglés)?

Se considera que: es importante tener en cuenta que en EMR de LMA se deben analizar de 500.000 a 1.000.000 de eventos con al menos ocho colores y usando estrategias de análisis que usen tanto los inmunofenotipos aberrantes asociados a leucemia, así como los inmunofenotipos diferentes de lo no

Es importante tener en cuenta este número de eventos entre los eventos CD45 positivo.

P23. ¿Está de acuerdo con que aún no hay información clara y estandarizada sobre cómo hacer la EMR en LLC-B?

Se considera que: no hay información clara y estandarizada sobre cómo hacer la EMR en LLC-B. A pesar de lo anterior, existen publicaciones sobre el inmunofenotipo en esta patología con recomendaciones para la detección de EMR. De la misma forma, si hay CMF estandarizada para la caracterización de SLPC-B, la elección de la EMR se busca de acuerdo al inmunofenotipo original.^{31,32}

Conclusiones

Este consenso permite conocer la actualidad de los recursos que disponen los profesionales e IPS para el uso de EMR en el diagnóstico de las patologías hematológicas mencionadas, como también, sugiere una serie de consideraciones que dan paso a la estandarización de las prácticas en el uso de pruebas diagnósticas para un adecuado diagnóstico, tratamiento y seguimiento de los pacientes, lo cual se convierte en una herramienta fundamental para los hematólogos en su práctica clínica. De la misma forma, resalta la importancia de fortalecer la comunicación permanente entre los patólogos y hematólogos, lo cual da como resultado un manejo integral en el estudio de los pacientes y de cada caso en particular. Finalmente, se puede evidenciar que las IPS y los profesionales involucrados que participaron en este consenso, cuentan con la formación, la tecnología y la infraestructura necesaria para el uso de EMR.

Conflictos de interés

Ninguno de los autores declara conflictos de interés.

Fuente de financiación

Este proyecto fue financiado por la Asociación Colombiana de Hematología y Oncología - ACHO.

Colaboraciones

Rocío Orduz, Javier Rendón y Carlos Alberto Castro colaboraron en la concepción del estudio y su diseño, la adquisición y análisis de los resultados, y la escritura del manuscrito.

Martha Romero, Sandra Quijano Gómez, Isabella Caicedo Ortiz, Liliana Moreno, Roberto Jaramillo, Cristian David Quintero, Vanessa Santiago, Elda Graciela Vélez, Andrea Naranjo, Jorge García, Nhora María Silva, Catalina Franco, Diana Lozano, Wendy Nieto, Alexandra Moreno, Jorge Andrés García, Virginia Abello, Claudia Sossa, Paola Omaña y Kenny Gálvez colaboraron en la escritura del manuscrito o la revisión crítica de su contenido intelectual.

Biografía de autores

Rocío Orduz, Hematopatóloga
 Javier Rendón, Hematopatólogo
 Martha Romero, Hematopatóloga
 Sandra Quijano Gómez, Bacterióloga MSc. Ph.D
 Isabella Caicedo Ortiz, Hematopatóloga
 Liliana Moreno, Hematopatóloga
 Roberto Jaramillo, Hematopatólogo
 Cristian David Quintero, Patólogo
 Vanessa Santiago Pacheco, Hematopatóloga
 Elda Graciela Vélez, Bacterióloga
 Andrea Naranjo, Bacterióloga
 Jorge García Vera, Hematopatólogo
 Nhora María Silva Pérez, Hematopatóloga
 Catalina Franco Álzate, Hematopatóloga
 Diana Lozano, Hematopatóloga
 Wendy Nieto, Hematopatóloga
 Alexandra Moreno Aguirre, Hematopatóloga
 Jorge Andrés García, Hematopatólogo
 Virginia Abello, Hematóloga
 Claudia Sosa, Hematóloga
 Paola Omaña, Hematóloga
 Kenny Gálvez, Hematólogo
 Carlos Alberto Castro, Médico, Epidemiólogo

Referencias

1. Uribe CJ, Meza EE, NJ. G. Incidencia de neoplasias hematológicas en el área metropolitana de Bucaramanga, 2000-2004. MedUNAB. [Internet] 2008;11(7):76-82. Disponible en: <https://revistas.unab.edu.co/index.php/medunab/article/view/64/58>
2. Leukemia & Lymphoma Society. Minimal/Measurable Residual Disease (MRD). [Internet] 2019. Disponible en: https://www.lls.org/sites/default/files/2022-06/FS35_Minimal_Residual_Disease_2022_Final.pdf. Acceso: 2023.
3. World Health Organization (WHO), International agency for research of cancer. Cancer Today France-Lyon. [Internet] 2022. Disponible en: https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/tables?mode=cancer&cancers=34&populations=900&multiple_populations=1&key=crude_rate&group_populations=1.
4. Ministerio de Salud y Protección Social. Cuenta de Alto Costo - Cáncer (Leucemias y linfomas) Colombia. [Internet]. 2022. Disponible en: <https://cuentadealtocosto.org/cancer/>
5. Martínez-Sánchez L, Jaramillo-Jaramillo L, Álvarez-Hernández L, Hernández-Restrepo F, Ruíz-Mejía C, et al. Enfermedad Mínima Residual en leucemia: rompiendo el paradigma de remisión completa. Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia [Internet]. 2018;34(1):1-16. Disponible en: <https://revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/881/766>
6. Cardona-Quiceno RA, Mejía-Pineda GS, López L, Ruíz-Mejía C, Jaramillo LI, et al. Detección por citometría de flujo de la enfermedad mínima residual en las leucemias agudas. Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia [Internet]. 2021;37(3):e1428. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=So864-02892021000300009
7. Borowitz MJ, Pullen DJ, Winick N, Martin PL, Bowman WP, Camitta B. Comparison of diagnostic and relapse flow cytometry phe-

- notypes in childhood acute lymphoblastic leukemia: implications for residual disease detection: a report from the children's oncology group. *Cytometry B Clin Cytom* [Internet]. 2005;68(1):18-24. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/cyto.b.20071>.
8. Theunissen P, Meijstrikova E, Sedek L, van der Sluijs-Gelling AJ, Gaipa G, Bartels M, et al. Standardized flow cytometry for highly sensitive MRD measurements in B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood* [Internet]. 2017;129(3):347-57. Disponible en: <https://doi.org/10.1182/blood-2016-07-726307>
9. Szczepański T. Why and how to quantify minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia? *Leukemia* [Internet]. 2007;21(4):622-6. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2404603>.
10. Cárdenas-Araujo D, Gutiérrez-Aguirre CH. Métodos para detectar enfermedad mínima residual en leucemia linfoblástica aguda y su aplicación clínica. *Rev Hematol Mex* [Internet]. 2018;19(1):41-9. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/hematologia/re-2018/re181e.pdf>
11. Blanquer MB, Algueró C, López RP, Cabañas-Perianes V. Protocolo de utilización e interpretación de pruebas moleculares en enfermedades hematológicas malignas. *Medicine* [Internet]. 2020;13(20):1159-62. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.med.2020.11.007>
12. Martínez-Ezquerro JD, Ruiz-Cejudo SM, Bustamante-Fuentes A, Díaz-Badillo Á, García-Oropesa EM, López-Sosa EB, et al. Consenso experto en tiempos de COVID-19: aplicaciones del método Delphi en materia de salud. *Cir Cir* [Internet]. 2020;89(1):120-129. Disponible en: <https://doi.org/10.24875/CIRU.20000936>
13. Sánchez-Pedraza R, Jaramillo-González LE. Metodología de calificación y resumen de las opiniones dentro de consensos formales. *Revista Colombiana de Psiquiatría* [Internet]. 2009;38(4):777-785. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-74502009000400015
14. Asociación Colombiana de Hematología y Oncología-ACHO, Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud-FUCS. Guía de Práctica Clínica para el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica. [Internet] 2022. Disponible en: <https://repositorio.fucsalud.edu.co/bitstream/handle/001/1953/GPC-%20leucemia%20linfoc%C3%ADtica%20cr%C3%B3nica%20%28PROFESIONALES%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acceso: 2023.
15. Brüggemann M, Raff T, Flohr T, Gökbuget N, Nakao M, Droese J, et al. Clinical significance of minimal residual disease quantification in adult patients with standard-risk acute lymphoblastic leukemia. *Blood* [Internet]. 2006;107(3):1116-23. Disponible en: <https://doi.org/10.1182/blood-2005-07-2708>.
16. Campana D. Role of minimal residual disease monitoring in adult and pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am* [Internet]. 2009;23(5):1083-98. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2009.07.010>.
17. Campana D. Minimal residual disease studies by flow cytometry in acute leukemia. *Acta Haematol* [Internet]. 2004;122(1-2):8-15. Disponible en: <https://doi.org/10.1159/000077554>.
18. Flores-Montero J, Sanoja-Flores L, Paiva B, Puig N, García-Sánchez O, Böttcher S, et al. Next Generation Flow for highly sensitive and standardized detection of minimal residual disease in multiple myeloma. *Leukemia*. [Internet] 2017;31(10):2094-103. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/leu.2017.29>.
19. Soh KT, Tario JD, Jr., Hahn TE, Hillengass J, McCarthy PL, et al. Methodological considerations for the high sensitivity detection of multiple myeloma measurable residual disease. *Cytometry B Clin Cytom* [Internet]. 2020;98(2):161-73. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/cyto.b.21862>
20. Flores-Montero J, de Tute R, Paiva B, Perez JJ, Böttcher S, Wind H, et al. Immunophenotype of normal vs. myeloma plasma cells: Toward antibody panel specifications for MRD detection in multiple myeloma. *Cyto-*

- metry B Clin Cytom [Internet]. 2016;90(1):61-72. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/cyto.b.21265>.
21. Coltoff A, Houldsworth J, Keyzner A, Renteria AS, Mascarenhas J. Role of minimal residual disease in the management of acute myeloid leukemia-a case-based discussion. *Ann Hematol* [Internet]. 2018;97(7):1155-67. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00277-018-3330-9>.
 22. Kalina T, Flores-Montero J, van der Velden VHJ, Martin-Ayuso M, Böttcher S, Ritgen M, et al. EuroFlow standardization of flow cytometer instrument settings and immunophenotyping protocols. *Leukemia* [Internet]. 2012;26(9):1986-2010. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/leu.2012.122>.
 23. Liu Z, Li Y, Shi C. Monitoring minimal/measurable residual disease in B-cell acute lymphoblastic leukemia by flow cytometry during targeted therapy. *Int J Hematol* [Internet]. 2021;113(3):337-43. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12185-021-03085-y>.
 24. Yee AJ, Raje N. Minimal residual disease in multiple myeloma: why, when, where. *Hematology. Am Soc Hematol Educ Program* [Internet]. 2021;2021(1):37-45. Disponible en: <https://doi.org/10.1182/hematology.2021000230>.
 25. Narayanan D, Weinberg OK. How I investigate acute myeloid leukemia. *International Journal of Laboratory Hematology* [Internet]. 2020;42(1):3-15. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/ijlh.13135>.
 26. Dillon R, Potter N, Freeman S, Russell N. How we use molecular minimal residual disease (MRD) testing in acute myeloid leukaemia (AML). *Br J Haematol* [Internet]. 2021;193(2):231-44. Disponible en: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1716863>.
 27. Jongen-Lavrencic M, Grob T, Hanekamp D, Kavelaars FG, al Hinai A, Zeilemaker A, et al. Molecular Minimal Residual Disease in Acute Myeloid Leukemia. *New England Journal of Medicine* [Internet]. 2018;378(13):1189-99. Disponible en: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1716863>.
 28. Short NJ, Ravandi F. How close are we to incorporating measurable residual disease into clinical practice for acute myeloid leukemia? *Haematologica* [Internet]. 2019;104(8):1532-41. Disponible en: <https://doi.org/10.3324/haematol.2018.208454>.
 29. Cohen AD. Myeloma: next generation immunotherapy. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* [Internet]. 2019;2019(1):266-72. Disponible en: <https://doi.org/10.1182/hematology.2019000068>.
 30. Paiva B, van Dongen JJ, Orfao A. New criteria for response assessment: role of minimal residual disease in multiple myeloma. *Blood* [Internet]. 2015;125(20):3059-68. Disponible en: <https://doi.org/10.1182/blood-2014-11-568907>.
 31. Bruce C, Mato A. Assessment of minimal residual disease (MRD) in chronic lymphocytic leukemia: a review of the data and future directions. *Clin Adv Hematol Oncol* [Internet]. 2020;18 Suppl 10(6):7-14. Disponible en: <https://www.hematologyandoncology.net/files/2020/06/hoo620sup10-1.pdf>.
 32. Heuser M, Freeman SD, Ossenkoppele GJ, Buccisano F, Hourigan CS, Ngai LL, et al. 2021 Update on MRD in acute myeloid leukemia: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood*. [Internet] 2021 Dec 30;138(26):2753-2767. Disponible en: <https://doi.org/10.1182/blood.2021013626>.