

VERIFICACIÓN DE LINEALIDAD EN LA CUANTIFICACIÓN DE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS POR CITOMETRÍA DE FLUJO

Marini-Villalvazo M.¹, Santiago-Rubio E.¹, Jiménez-García E.¹, Sánchez-Camacho B.¹.

¹Laboratorio Diagnóstica JR, Ciudad de México, México.

Introducción

La linealidad es la capacidad de un método analítico para obtener resultados proporcionales a la concentración de un analito en un rango definido por el fabricante. Los analitos de este estudio corresponden a las subpoblaciones linfocitarias (CD3+, CD4+, CD8+) en muestras de sangre total-EDTA, utilizada principalmente en el seguimiento de pacientes con VIH.

La implementación de un método en las condiciones propias de un laboratorio clínico; requiere la verificación de método; lo cual permite demostrar que las especificaciones del fabricante se cumplen bajo las condiciones establecidas por el laboratorio. Además, la documentación de dicho proceso protege la evidencia objetiva que rechaza la eficiencia del método validado por el fabricante. En este contexto, la guía EP6-A2 *Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures* establece los lineamientos para la verificación de linealidad.

Objetivo

Verificar el intervalo lineal reportado por el fabricante BD para el reactivo Multitest CD3/CD8/CD45/CD4 en la plataforma FACSCanto II, aplicando el protocolo CLSI EP-06-A2 en el laboratorio **Diagnóstica JR**.

Materiales y métodos

Reactivos BD Multitest®
CD3/CD8/CD45/CD4 Tubos
Trucount®.

Toma de muestra de PX
sanos en tubos con EDTA.

Se prepararon y corriendo el panel de diluciones en un citómetro FACSCanto II en el software FACSCanto.

Los datos obtenidos se analizaron con la estadística WLS.

Y finalmente se estableció el Error Sistématico aceptable (ESA), a partir del 50% del Error Total Aceptable (ETA).

1

2

3

4

5

6

7

Preparación de diluciones equidistantes (5 diluciones 100%-75%-50%-25%-0%).

Se obtuvieron por triplicado los datos de los marcadores CD3+, CD4+ y CD8+.

Se obtuvieron los valores del valor predicho, el intervalo de confianza al 90%.

Se estableció el requisito de la calidad basado del estado del arte para cada marcador:

CD3+: ETA concentración: 192.70 Cel/ μ L ETA % 16%.
CD4+: ETA concentración: 100.80 Cel/ μ L ETA % 14.9%.
CD8+: ETA concentración: 109.01 Cel/ μ L ETA % 20.4%.

El criterio de aceptación el ESA en formato doble expresión y el IC 90%.

Resultados

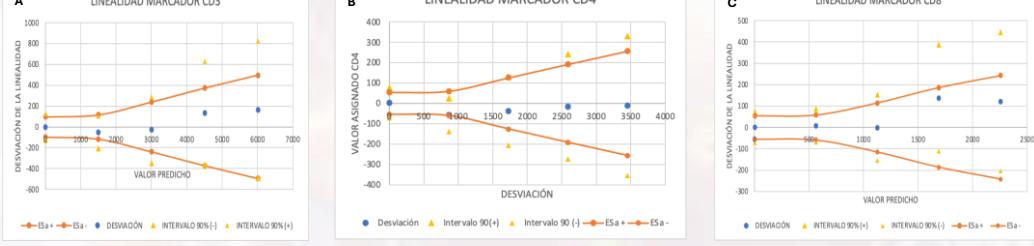


Figura 1. Linealidad evaluada con la desviación obtenida, contra el intervalo IC 90% y contra el valor Esa, para los marcadores CD3+, CD4+ y CD8+. (Grafica A: CD3, Grafica B: CD4 y Grafica C: CD8).

Tabla 1. Resumen del rango de linealidad verificado, la pendiente obtenida, el intervalo de confianza (IC) al 90% y el valor Esa, para los marcadores CD3+, CD4+ y CD8+ y el estatus de dicha verificación.

Marcador	Rango del Fabricante (Cel/ μ L)	Rango Lineal Verificado (Cel/ μ L)	Rango de valor predicho (Cel/ μ L)	Rango de desviación	IC 90% (\pm)	ESa (\pm)	ESa (\pm)	Estatus
CD3+	6 – 5998	6 – 6017	5.40 – 5421.46	-0.73 a 213.53	\pm 539.43	433.72	96.35	Aprobado
CD4+	1 – 3669	2 – 3456	1.84 – 3180.22	2.49 a 82.77	\pm 342.51	236.93	54.40	Aprobado
CD8+	2 – 2324	2 – 2256	1.84 – 2082.03	0.48 a 1.29	\pm 148.67	212.37	54.50	Aprobado

Conclusión

En los resultados obtenidos se encontró que los rangos evaluados de los tres marcadores; las concentraciones más altas tienden a presentar una mayor desviación del valor predicho, por lo que utilizar el Esa formato porcentual para dichas concentraciones suele ser de mayor relevancia. Las diluciones utilizadas permitieron identificar sesgos fuera de los niveles de decisión clínica y evaluar el comportamiento del método dentro del rango lineal. Se debe tener en cuenta que la verificación de métodos es necesaria para la mejora continua de un laboratorio clínico, para garantizar confianza en sus resultados.

Bibliografía: CLSI EP 06-A2. Evaluation of the linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline, 2021, BD, (2014) BD Multitest™ CD3/CD8/CD45/CD4, James O. Westgard, (2013) Validación Básica de Métodos Analíticos Ed. Wallace Coulter. ISBN:978-1-886958-18-0.

