



Correlación de parámetros de biometría hemática entre dos analizadores y cuenta reticulocitaria manual y automatizada

Laura Arcelia Montiel-Cervantes,* Gloria Hernández-Neri,* Gerardo Vargas-Rendón‡

Palabras clave:

Diferencial,
evaluación,
análisis
hematológico,
reticulocitos.

Key words:

Differential,
evaluation,
hematology analyzer,
reticulocytes.

* Investigador
Asociado.
‡ Investigador
Principal.

Laboratorio de
Hematología Especial.
Departamento de
Hematología. Hospital
de Especialidades «Dr.
Antonio Fraga Mouret»
del Centro Médico
Nacional «La Raza».

Correspondencia:
Laura Arcelia
Montiel-Cervantes
Seris y Zaachila s/n,
Colonia La Raza,
Delegación
Azcapotzalco,
02990, México, D.F.
Tel. 57245900
ext. 23213
E-mail:
lauramontielcervantes
@outlook.com

Recibido:
22/09/2015
Aceptado:
01/10/2015

RESUMEN

Los laboratorios de hematología requieren instrumentos innovadores que provean mayor información sobre las anomalías celulares, el analizador BC-6800 (Mindray Medical Systems) realiza una tinción fluorescente que permite conocer el índice de DNA/RNA de las células, muestra una excelente sensibilidad y buen desempeño en la velocidad del proceso de muestras, cuantifica reticulocitos, normoblastos y plaquetas inmaduras entre otros parámetros. Se evaluó el desempeño del BC-6800 y se analizó la correlación entre los parámetros de la biometría en muestras de pacientes oncohematológicos obtenidos en los equipos Advia 120 y BC-6800; además se comparó el desempeño del BC-6800 en la cuenta reticulocitaria versus la cuenta manual. Para lo anterior se realizó un estudio prospectivo transversal y comparativo en cuanto al desempeño de los equipos. El presente estudio se llevó a cabo en el Servicio de Hematología del Hospital de Especialidades del CMN «La Raza» en diciembre de 2014. Los resultados entre ambos instrumentos se correlacionaron utilizando el método de Pearson. Se encontró una correlación promedio de 0.9745 entre los parámetros de la biometría hemática de muestras de pacientes oncohematológicos obtenidos en el Advia 120 y el BC-6800, en cuanto a la cuenta manual y automatizada de reticulocitos la correlación observada fue de 0.9435.

ABSTRACT

Laboratories need technologies that provide more information about cellular abnormalities. The BC-6800 (Mindray Medical Systems) hematology analyzer makes a fluorescent staining, specific for genetic material, which permits to determine the rate of DNA/RNA inside the cell providing information about the maturity of the cells, the equipment performance was adequate in terms of sensitivity, throughput, reticulocyte count, immature platelet, normoblasts and other parameters. The study was conducted to evaluate the performance of the BC-6800 and to determine whether there is a good correlation between the parameters of cell blood count in oncohematological samples obtained from patients processed by the Advia 120 and BC-6800 equipments; a comparative study regarding the reticulocyte manual counting and the BC-6800 was performed. The study was conducted at the Department of Special Hematology of the Hospital Centro Médico Nacional «La Raza» in December 2014. Statistical analysis using measures of central tendency and dispersion was performed. The results between the two instruments were correlated using the Pearson method. An average correlation of 0.9745 was found between the parameters performance of Advia 120 and BC-6800 in oncohematological samples. The manual reticulocyte counting versus the automated counting in the BC-6800 showed a correlation of 0.9435.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de nuevas tecnologías ha mejorado los equipos de apoyo para el laboratorio de patología, este hecho tiene una importante repercusión en la emisión de un resultado de laboratorio exacto, preciso y en tiempo. En el laboratorio de hematología se sugiere el uso del protocolo propuesto por el *International Committee for Standardization in Haematology (ICSH)*¹ para la evaluación de analizadores hematológicos.

Analizadores de hematología

El ADVIA 120 es un analizador con una excelente sensibilidad y especificidad para detectar la presencia de células anormales, sin embargo, el instrumento no cuantifica las células, emite alarmas que tienen que ser corroboradas por los profesionales de laboratorio.² El instrumento utiliza el principio de tinción con peroxidasa para diferenciar las poblaciones de los linajes mieloides y linfoides. Antes de reportar los resultados del paciente, el laboratorio valida

y toma las acciones apropiadas de acuerdo con los procedimientos de operación establecidos.³ Las alarmas plaquetarias sólo se activan si las plaquetas son grandes, lo mismo que el indicador de normoblastos.⁴

Analizador de hematología BC-6800. El BC-6800 opera bajo el principio de la tecnología de cubo basado en la dispersión de luz con fluorescencia, llamado también cubo de análisis celular para caracterizar y cuantificar los leucocitos, eritrocitos, plaquetas, reticulocitos y normoblastos; también utiliza el método de impedancia enfocada de corriente directa, la cuantificación de eritrocitos y plaquetas. La medición de hemoglobina se realiza por colorimetría. El cubo de dispersión de luz con fluorescencia es una tecnología innovadora que se aplica para realizar un análisis más confiable de las células sanguíneas, esta tecnología permite al equipo la capacidad de diferenciar entre leucocitos, reticulocitos y normoblastos⁵ con una señalización eficiente de las anomalías presentes en las células evaluadas. Después de la reacción de tinción fluorescente de los componentes internos de las células con los reactivos apropiados,⁶ las células sanguíneas se someten al análisis en tres dimensiones utilizando los parámetros de dispersión de luz; se realiza la cuenta diferencial de los leucocitos de acuerdo con su tamaño, complejidad celular y contenido de DNA/RNA.⁷

Esta técnica es de gran utilidad, especialmente para revelar poblaciones de células anormales no detectadas por otras tecnologías.

La detección de parámetros como el número de granulocitos inmaduros indica la presencia de células como promielocitos, mielocitos y metamielocitos que se caracterizan por presentar elevada fluorescencia, los blastos y linfocitos atípicos también presentan esta característica. Con la tecnología del BC-6800, los basófilos se reconocen por ser células más grandes y más complejas que otras subpoblaciones de leucocitos; los normoblastos son otro tipo de células que son detectadas en un canal específico del cubo de fluorescencia.^{5,7}

Por otra parte, el BC-6800 corrige de forma automática el recuento total de leucocitos y emite el diferencial de seis partes cuando hay presencia de normoblastos, lo que asegura un resultado de la cuenta diferencial de seis partes de los leucocitos de manera más confiable y por consiguiente disminuye la necesidad de realizar la revisión microscópica por personal especializado.⁸

Reticulocitos: los parámetros relacionados con la detección de reticulocitos proporcionan información sobre el estado de la eritropoyesis y apoyan en el diagnóstico diferencial y/o monitoreo terapéutico de las anemias. Mediante la tecnología del cubo de fluorescencia, los reticulocitos se diferencian de otras células eritroides

por su patrón de tinción fluorescente. Además de los parámetros tradicionales como el número y porcentaje de reticulocitos, el BC-6800 proporciona información relativa a reticulocitos inmaduros, los cuales pueden ayudar en el diagnóstico temprano de anemia y monitorear la respuesta de la médula ósea en la terapia hematológica.⁹

Plaquetas: las plaquetas pueden ser identificadas mediante la tecnología del cubo de dispersión de otras poblaciones de células que interfieren. El resultado obtenido del número de plaquetas por este método evita la interferencia de eritrocitos microcíticos fragmentados, plaquetas grandes y/o conglomerados de plaquetas.^{8,9}

Método de impedancia enfocada de corriente directa

El método de impedancia enfocada de corriente directa utiliza dos fluidos envolventes para asegurar un ambiente confiable para el conteo celular. Las células hidrodinámicamente dirigidas se miden por la resistencia al paso eléctrico entre los electrodos colocados en la apertura de conteo.

Eritrocitos y plaquetas: el método de impedancia enfocada minimiza la interferencia tradicionalmente encontrada en la impedancia convencional para producir histogramas gaussianos. Por este motivo los parámetros relacionados con el histograma tales como volumen corpuscular medio, coeficiente de variación del tamaño eritrocitario y desviación estándar del tamaño eritrocitario son más precisos y proporcionan información clínica más confiable.^{5,6}

El BC-6800 cuenta con programas para el reporte de 37 parámetros tales como: leucocitos, porcentaje de linfocitos, monocitos, neutrófilos, basófilos, eosinófilos, número total de eritrocitos, concentración de hemoglobina, hematocrito, volumen corpuscular medio, hemoglobina corpuscular media, concentración media de hemoglobina corpuscular eritrocitaria, coeficiente de variación del tamaño eritrocitario, desviación estándar del tamaño eritrocitario, reticulocitos en porcentaje y por microlitro, reticulocitos inmaduros (alta fluorescencia), reticulocitos de baja y mediana fluorescencia, normoblastos en porcentaje y en microlitro, plaquetas, volumen plaquetario medio, ancho de distribución plaquetaria, plaquetocrito, número de plaquetas grandes, porcentaje y número total de granulocitos inmaduros, fracción de plaquetas inmaduras, entre otros.⁵⁻⁸

Lo anterior conlleva a proporcionar resultados confiables al derechohabiente con patología hematológica en menos tiempo, de tal manera que el clínico pueda aplicar el tratamiento oportuno.

OBJETIVOS

Evaluar el desempeño del analizador hematológico BC-6800, determinar la correlación entre los parámetros de la biometría hemática obtenidos en comparación con el Advia 120 y evaluar la cuantificación automática de los reticulocitos versus la cuenta manual de reticulocitos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño de estudio

Se realizó un estudio de observación prospectiva, transversal, comparativo y abierto.

Universo de estudio

Muestras

El estudio se realizó utilizando muestras frescas de sangre periférica procesadas dentro de las primeras cuatro horas de su recolección provenientes de la población de pacientes hospitalizados en el Servicio de Hematología del Hospital de Especialidades del CMN «La Raza» con diagnóstico clínico y morfológico de padecimientos hematológicos durante el periodo comprendido del 3 de noviembre al 3 de diciembre de 2014.

Material

Controles valorados que deben probarse en un periodo verificando que los resultados sean acorde a lo esperado: controles para fórmula roja, leucocitaria, plaquetaria, reticulocitaria y de normoblastos alto, normal y bajo; reactivos para el equipo Advia-120. Reactivos para el equipo BC-6800.

Criterios de selección

Criterios de inclusión. Muestras de biometría hemática (EDTA) de menos de cuatro horas de haber sido extraídas provenientes de pacientes hospitalizados en el Servicio de Hematología del HECMNR mayores de 16 años con problemas hematológicos.

Con valores de hemoglobina desde 4.0 hasta 18.0 g/dL; leucocitos desde 100 hasta 400,000 por microlitro; plaquetas desde 8,000 hasta 1,500,000 por microlitro; reticulocitos desde cero hasta 70.0% y muestras que contengan normoblastos.

No se requiere firma de consentimiento informado debido a que las muestras que se utilizarán serán las de desecho de los estudios de rutina, el investigador principal garantizará la privacidad de los resultados.

Criterios de no inclusión. Muestras de pacientes que hayan sido tomadas de catéter.

Criterios de eliminación. Muestras de pacientes que presenten coágulos.

Tamaño de la muestra¹⁰ (correlación entre dos variables numéricas)

$$n = \left(\frac{Z_{\alpha} + Z_{\beta}}{\frac{1}{2} \ln \left[\frac{1+r}{1-r} \right]} \right)^2 + 3$$

en la que:

$$\begin{aligned} \alpha &= 0.01 & Z_{\alpha} &= 2.576 \\ Z_{\beta} &= 1.282 & n &= 5 \text{ (cada parámetro } \times 13) \\ \text{Potencia } (1-\beta) &= 0.9 & n &= 65 \\ r &= 0.99 \end{aligned}$$

Cuadro I. Análisis de reproducibilidad en la cuenta de leucocitos (WBC), eritrocitos (RBC), hemoglobina (HGB), hematocrito (HCT) y plaquetas (PLT) procesados en el BC-6800.

		WBC (x10 ³ /uL)	RBC (10 ⁶ /uL)	HGB (g/dL)	HCT (%)	PLT (x10 ³ /uL)
Bajo	Media	3.98	2.51	6.12	20.65	61
	DS	0.09	0.03	0.08	0.34	3.26
	CV	2%	1%	1%	2%	5%
Normal	Media	7.47	5.58	13.73	44.09	244.31
	DS	0.19	0.05	0.51	1.60	12.41
	CV	3%	1%	4%	4%	5%
Alto	Media	20.31	5.57	17.37	56.11	455.42
	DS	0.42	0.07	0.25	0.65	9.16
	CV	2%	1%	1%	1%	2%

Análisis estadístico

- Se realizará un análisis descriptivo de la información utilizando medidas de tendencia central y dispersión (media, desviación estándar, mediana, percentiles 25 y 75%).
- Se correlacionarán los resultados de los dos equipos con la prueba de «correlación de Pearson», las cantidades de hemoglobina, cantidad de eritrocitos, concentración media de hemoglobina corpuscular, hemoglobina corpuscular media, volumen globular medio, cantidad de leucocitos y plaquetas.
- Se considerará como estadísticamente significativo un valor de $p < 0.05$.
- Se utilizará el programa SPSS v18.0.

RESULTADOS

El análisis estadístico del BC-6800 mostró un buen desempeño con coeficientes de variación menor de 5% en todos los casos (cuadro I).

Se procesaron 370 muestras de pacientes en ambos instrumentos para determinar los coeficientes de correlación. La correlación entre ambos instrumentos fue excelente. El coeficiente de correlación para los leucocitos (WBC) fue de 0.9976, para los eritrocitos (RBC) fue de 0.9923, plaquetas (PLT) 0.989, hemoglobina (HGB) 0.9701 y para el hematócrito (HCT) fue de 0.9237, las figuras 1 a 5 muestran respectivamente las correlaciones.

Para la comparación de la cuenta manual reticulocitaria versus el BC-6800 se realizaron dos conteos manuales

con dos observadores diferentes, cada uno de ellos realizó el conteo total de 500 células (rutina laboratorio del IMSS) y 2,000 células (recomendación de la ICSH), ambos hicieron el recuento de reticulocitos en muestras patológicas diagnosticadas con anemia y anemia aplásica, en contraste el analizador BC-6800 contó 100,000 células.

Los cuadros II y III muestran las diferencias entre la cuenta manual con dos observadores de 500 y 2,000 células versus las 100,000 células contadas por el analizador en una muestra de paciente con anemia y otra con anemia aplásica respectivamente, la correlación promedio encontrada fue de 0.9435.

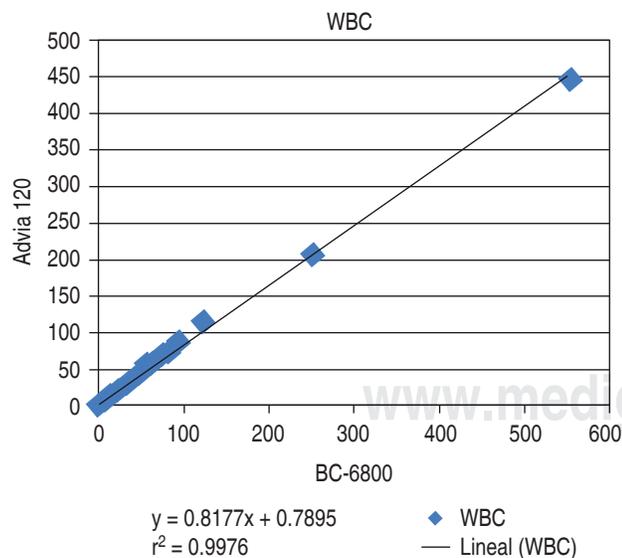


Figura 1. Correlación de la cuenta de WBC entre el Advia 120 y el BC-6800.

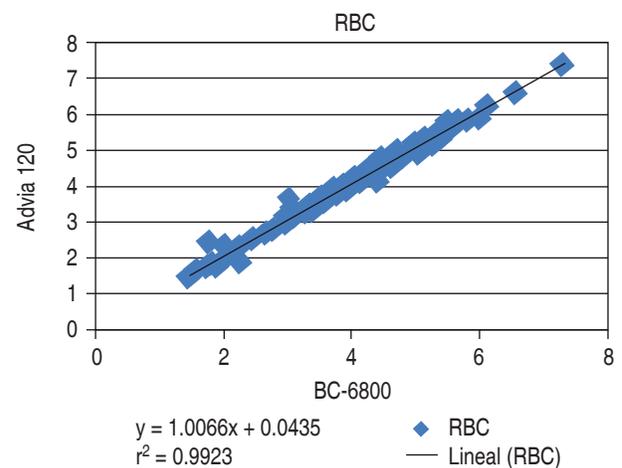


Figura 2. Correlación de la cuenta de RBC entre el Advia 120 y el BC-6800.

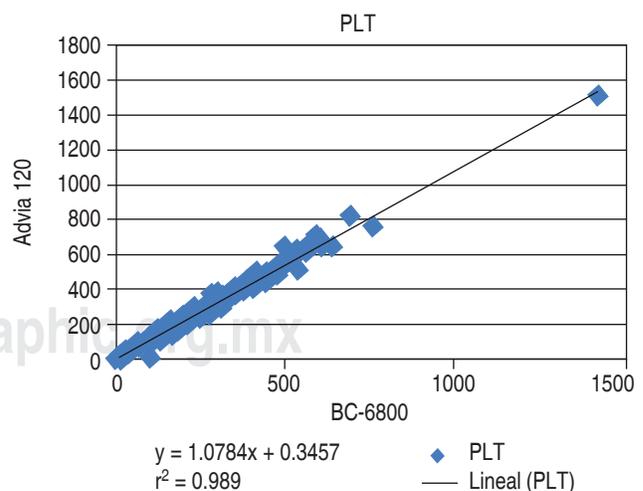


Figura 3. Correlación de la cuenta de plaquetas entre el Advia 120 y el BC-6800.

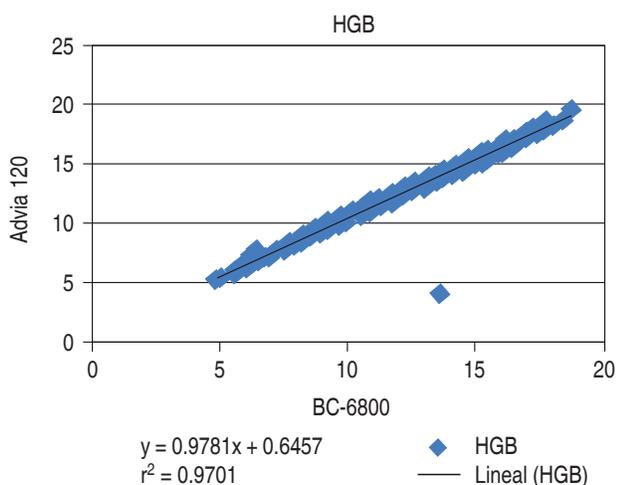


Figura 4. Correlación de la cuenta de hemoglobina entre el Advia 120 y el BC-6800.

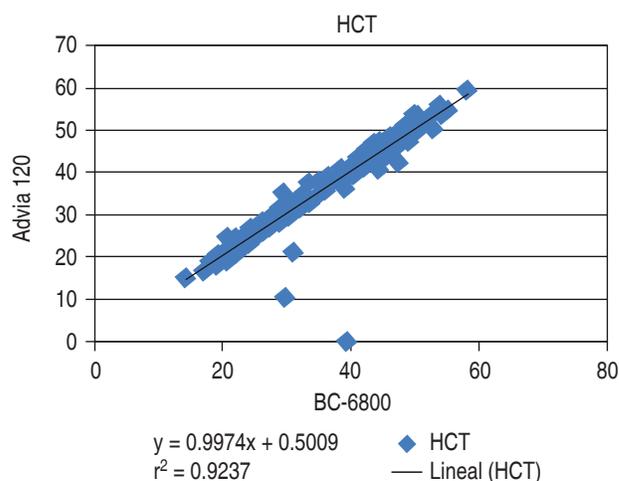


Figura 5. Correlación de la cuenta de hematocrito entre el Advia 120 y el BC-6800.

Cuadro II. Recuento manual de reticulocitos versus automatizado en el BC-6800 en muestra de paciente con anemia.

	#Total @ 500	#Total @ 2,000	@500		@2,000		@ 100,000
			ICSH fórmula	IMSS fórmula	ICSH fórmula	IMSS fórmula	BC-6800
#RET	18	79	3.24	3.35	3.77	3.92	4.46
#RBC	538	2,014					
	3.35%	3.92%					
Observador 1							
	#Total @ 500	#Total @ 2,000	@500		@2,000		@ 100,000
			ICSH fórmula	IMSS fórmula	ICSH fórmula	IMSS fórmula	BC-6800
#RET	18	78	3.24	3.35	3.73	3.87	4.46
#RBC	538	2,014					
	3.3%	3.87%					
Observador 2							

= Número de células contadas manualmente por 2 observadores a 500 y 2,000 eritrocitos vs las 100,000 células contadas por el analizador en muestras de pacientes con anemia y otra con anemia aplásica respectivamente.

DISCUSIÓN

El analizador BC-6800 cumple con el desempeño esperado de acuerdo con el protocolo de la NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*) así como con las especificaciones, lineamientos y límites establecidos por el fabricante en el manual de operaciones. La correlación de los parámetros entre el Advia 120 y el BC-6800 fue excelente de entre 0.9237 a 0.9976.

El BC-6800 presentó una correlación promedio de 0.9435 en la cuenta de reticulocitos al compararse con la cuenta manual, es importante tener en cuenta que el equipo es más exacto al tomar como referencia la cuenta total de 100,000 células.

El BC-6800 orientó positivamente el diagnóstico hematológico en pacientes con padecimientos tales como anemias y leucemias gracias a su tecnología de fluorescencia óptica en tres dimensiones; asimismo

Cuadro III. Recuento manual de reticulocitos versus automatizado en el BC-6800 en muestra de paciente con anemia aplásica.

	#Total @ 500	#Total @ 2,000	@500		@2,000		@ 100,000
			ICSH fórmula	IMSS fórmula	ICSH fórmula	IMSS fórmula	BC-6800
#RET	32	113	5.93	6.30	5.28	5.57	4.44
#RBC	508	2,028					
	6.30%	5.57%					
Observador 1							
	#Total @ 500	#Total @ 2,000	@500		@2,000		@ 100,000
			ICSH fórmula	IMSS fórmula	ICSH fórmula	IMSS fórmula	BC-6800
#RET	34	115	6.27	6.69	5.37	5.67	4.44
#RBC	508	2,028					
	6.69%	5.67%					
Observador 2							

= Número de células contadas manualmente por 2 observadores a 500 y 2,000 eritrocitos vs las 100,000 células contadas por el analizador en muestras de pacientes con anemia y otra con anemia aplásica respectivamente.

el instrumento puede analizar muestras de líquidos corporales sin necesidad de reactivos adicionales, esta característica fue observada durante la evaluación y se obtuvieron recuentos celulares consistentes con los procedimientos manuales.

Con base en los resultados obtenidos y el trabajo de rutina realizado con el instrumento BC-6800 podemos afirmar que el analizador arroja resultados consistentes, que el mantenimiento es sencillo y que es un equipo robusto y confiable para el trabajo de rutina del laboratorio de hematología especial.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Instituto Mexicano del Seguro Social por su apoyo durante el desarrollo del protocolo de validación.

CONFLICTO DE INTERESES

Los investigadores principales y asociados declaran que no existen conflictos de interés financieros ni de ningún tipo.

REFERENCIAS

1. International Committee for Standardization in Haematology (ICSH). Protocol for evaluation of automated blood cell counters. Clin Lab Haemato. 1984; 6: 69-84.

2. Manual del operador. Sistema de hematología ADVIA 120. REF 01591698(06750104-01 RevB) CE V. 3. 01. 00. Siemens Healthcare Diagnostics Inc. 2008.
3. Malin MJ, Fan SS, Benezra J. Mechanism of automated alkaline methods for the determination of hemoglobin in whole blood based on the micellization of ligated heme in the presence and absence of cyanide. Anal Chim Acta. 1992; 262: 67-77.
4. Tycko DH, Metz MH, Epstein EA, Grinbaum A. Flow cytometric light scattering measurement of red blood cell volume and hemoglobin concentration. Applied Optics. 1985; 24 (9): 1355-1365.
5. Deng C et al. United States Patent Application Publication. Preparation and use of nucleated red blood cell simulating particles and hematology control mixtures. Pub No: US 2014/0099632 A1. Pub date: 2014. Apr 10.
6. Wang J, Fan L, Ma C, Zhang Y, Xu D. Effects of parenteral lipid emulsions on leukocyte numerical and morphological parameters determined by LH750 hematology analyzer. Int J Lab Hematol. 2013; 35 (5): e4-7.
7. Xu B et al. United States Patent. White blood cell differentiation reagent containing an asymmetric cyanine fluorescent dye and method of use thereof. Patent No: US 7960099 B2. Date of patent: 2011. Jun 14.
8. Ting L et al. United States Patent. Reagent and kit for classifying and counting leukocytes, the preparation thereof and process for classifying and counting leukocytes. Patent No: US 8685661 B2. Date of patent: 2014. Apr 1.
9. Shao J et al. United States Patent. Asymmetric cyanine fluorescent dyes, compositions and their use in staining biological samples. Patent No: US 8067602 B2. Date of patent: 2011. Nov 29.
10. Dawson B, Trapp RG. Métodos de medicina basada en evidencias. Capítulo 8. En: Bioestadística médica. 3a edición. México: Manual Moderno; 2002. pp. 203-232.