

Comparación entre diferencial automático por SYSMEX XT1800i y diferencial manual en la alerta de granulocitos inmaduros

Palabras clave: Analizador Hematológico Automatizado, XT 1800i, granulocitos inmaduros, comparación de métodos, diferencial leucocitario manual.

Key words: Automated Hematology Analyzer, XT1800i, immature granulocyte, method comparison, leucocyte differential manual count.

Recibido: 07/11/2012
Aceptado: 12/01/2013

Este artículo puede ser consultado en versión completa en:
www.medigraphic.com/patologiaclinica

Jade Estefany Pérez Ong,* Jorge Vera Delgado**

* Patología Clínica, Hospital Christus Muguerza Alta Especialidad (HCMAE), Monterrey, Nuevo León, México.

** Laboratorio Clínico y Banco de Sangre, HCMAE.

Correspondencia:

Dra. Jade Estefany Pérez Ong
Hospital Christus Muguerza Alta Especialidad
Laboratorio Clínico
Avenida Hidalgo Pte. 2525,
Col. Obispado, 64060, Monterrey, N.L.
Tel: (81) 8399-3471
Fax: (81) 8399-3438
E-mail: patologia.chmae@christusmuguerza.com.mx
jade_estefany@hotmail.com

102

Resumen

Antecedentes: Los analizadores automáticos son sistemas mecanizados que se emplean para hacer el recuento celular sanguíneo y realizar la fórmula leucocitaria. Hoy en día existen analizadores que cuentan ya con un diferencial leucocitario ampliado, cuenta de reticulocitos y eritrocitos nucleados. Por esta razón, es importante analizar la precisión en estos nuevos parámetros. **Objetivos:** Analizar el desempeño analítico del Sysmex XT1800i en el parámetro de granulocitos inmaduros en comparación con el diferencial manual. **Material y métodos:** Por un periodo de ocho semanas, todas las muestras que se procesaron para biometría hemática fueron recolectadas, pero sólo se seleccionaron las que contenían alarma de granulocitos inmaduros. Se realizó una comparación entre el diferencial automatizado con el conteo manual. Para esto, se tomaron en cuenta ciertos puntos del *National Committee for Clinical Laboratory Standards document H20-A*. **Resultados:** Se analizaron 120 muestras con alarma para este parámetro. En 20 muestras no se observó la presencia de granulocitos inmaduros en el conteo manual, en comparación del Sysmex XT1800i que obtuvo resultados de hasta 0.1×10^3 . Se obtuvo un coeficiente de correlación de $r: 0.55$. **Conclusión:** Es neces-

Abstract

Background: The automated analyzers are mechanism systems that are employed to realize the blood cellular count and leukocyte formula. In these days exist, some analyzers that have an extended differential count, in which includes immature granulocytes, reticulocytes count, and nucleated red blood cells. That's why is important to analyze the precision on these new parameters. **Objective:** Analyze the performance of Sysmex XT1800i in the immature granulocyte parameter in comparison with the manual count. **Material and methods:** For an eight week period all the samples analyzed for complete blood count were recollected and only were selected the ones with immature granulocytes alarm. Comparison between automated and manual count was made. Manual count was done according some points of the *National Committee for Clinical Laboratory Standards H20-A* document. **Results:** 120 samples were analyzed, in which 20 did not demonstrated the presence of immature granulocytes by the manual count, in this samples Sysmex XT1800i was able to analyze 0.1×10^3 , which is impossible in a manual differential. The correlation between both methods was $r: 0.55$. **Conclusion:** It is necessary the use of the manual count, for the confirmation of these

sario seguir utilizando el conteo manual para la confirmación de este parámetro, ya que su presencia en el extendido de sangre periférica nos hace pensar en algún proceso infeccioso o inflamatorio importante.

Introducción

En la actualidad los contadores hematológicos automatizados han ido evolucionando en cuanto a su tecnología con nuevos principios físicos para el análisis celular y la actualización constante de su *software*.

Con esta precisión de los nuevos analizadores automáticos se ha ido dejando atrás el conteo manual que normalmente se utilizaba para la búsqueda y detección de anomalías hematológicas. Se han hecho varios estudios de correlación de contadores automáticos *versus* manual, en los parámetros de leucocitos (WBC), glóbulos rojos (RBC), volumen corpuscular medio (VCM) y concentración de hemoglobina corpuscular media (ChbCM) en los cuales el desempeño es generalmente excelente.¹

A pesar de la sofisticación de estos métodos analíticos, las técnicas manuales son necesarias para evaluar el desempeño del equipo automatizado. Aunque la revisión tradicional de laminillas es un trabajo extenuante en un laboratorio con gran carga de trabajo, ya que no sólo ocupa tiempo, sino también el adiestramiento del personal de laboratorio.

La cuenta tradicional de laminillas se basa en 100 células, lo cual acarrea tres tipos de error: error estadístico, error de distribución, debido a una desigualdad de células en el frotis y error a la identificación de células, dada la interpretación subjetiva de cada examinador.^{1,2}

Con el advenimiento de nuevos automatizadores que cuentan con un diferencial extendido, tales como granulocitos inmaduros (GI), cuenta de reticulocitos (RET) y eritrocitos nucleados (NRBC) se deben valorar estos parámetros para su utilización en la clínica y evaluar el desempeño de estos analizadores.

parameter, because the presence of immature granulocytes in the blood film would make us think in an important infectious or inflammatory process.

Los granulocitos inmaduros son definidos como promielocitos, mielocitos y metamielocitos. La detección de éstos en sangre periférica refleja una respuesta de la médula ósea ante infección bacteriana, enfermedad inflamatoria aguda, cáncer (en especial con metástasis a médula ósea), necrosis tisular, enfermedades mieloproliferativas, uso de esteroides y embarazo (en particular en el tercer trimestre). Este parámetro puede ser útil en la predicción de infección o sepsis.⁶ Con la detección temprana de una bacteremia y su tratamiento oportuno, se reduce la mortalidad, la morbilidad y, por ende, los costos hospitalarios; es por eso que se hace relevante este objetivo clínico.

Los granulocitos inmaduros (GI) se miden en el canal diferencial leucocitario (DIFF) del XT1800i y clasifica a las células por medio de citometría de flujo por láser semiconductor, sin el uso de anticuerpos monoclonales. Durante este proceso se ilumina la muestra mediante un rayo láser semiconductor y se clasifican las células por medio de tres señales que éstas producen: luz dispersa frontal, que indica el volumen celular; luz dispersa lateral, que detecta el contenido interno de la célula (núcleolos y gránulos), y fluorescencia lateral, que detecta la cantidad de ADN y ARN presente. Dentro del canal diferencial leucocitario, el surfactante causa lisis o destrucción de leucocitos y plaquetas, provocando al mismo tiempo pequeñas aberturas en la membrana de leucocitos. El colorante polimetino migra hacia el leucocito dañado y se une a los ácidos nucleicos y organelos citoplasmáticos. Cuando las células son expuestas a la luz láser de 633 nm, la intensidad de la fluorescencia es proporcional al contenido de ácidos nucleicos,⁸ lo cual es útil para la detección de granulocitos inmaduros, ya que tienen un mayor tamaño nuclear y, por consiguiente, genera mayor fluorescencia.

Material y métodos

Se realizó un estudio observacional de corte transversal, con recolección de datos de tipo proelectivo.

Procesamiento y selección de las muestras:

Por un periodo de ocho semanas se recolectaron las muestras que se corrieron en el laboratorio para biometría hemática, y sólo se seleccionaron las que tenían alarma de granulocitos inmaduros (GI). En total fueron 120 muestras. Las muestras repetidas (mismo paciente en diferentes días) también fueron incluidas. Muestras sin etiqueta, coaguladas, lipémicas, con anormalidad en la hemoglobina o con agregados plaquetarios y con presencia de blastos fueron excluidas.

Cada muestra fue obtenida mediante venopunción y con contenido de 3 mL de sangre en tubos vacutainer con 7.2 mg de anticoagulante K₂ EDTA. Los tubos estaban etiquetados con su correspondiente código de barras, nombre del paciente, edad, sexo y número de cuenta del hospital. Todas las muestras fueron procesadas a modo cerrado automático por el XT1800i, en un periodo no mayor de unas horas desde su recolección. El equipo Sysmex XT1800i se encuentra dentro de programas de control interno diario (tres veces al día) para su calibración.

En cuanto al diferencial manual, se realizó el extendido en el portaobjetos y para su tinción se utilizó Hemacolor Stain Set. Se etiquetó el portaobjetos con el número de identificación del paciente y el químico supervisor del área de hematología de cada turno laboral realizó el conteo manual conforme lo establecido en el *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS). Se tomaron en cuenta como granulocitos inmaduros: metamielocitos, mielocitos y promielocitos.

Para la recolección de datos se utilizó Microsoft Office Excel 2007® y el análisis de regresión lineal en *Statistical Analysis Program Microgenetics Corporation* (DSAP®). Se realizó una correlación de Pearson.

Se hicieron comparaciones de las variables cuantitativas (valores absolutos y relativos del diferencial automatizado con diferencial manual). El valor absoluto del diferencial manual se obtuvo mediante la multiplicación del valor relativo con el valor de leucocitos totales.

Resultados

Se analizaron 120 muestras con alarma de granulocitos inmaduros (GI) por el contador automatizado, donde se obtuvieron valores relativos de (0.1-9.0%) y absolutos (0.01-2.91 x 10³/mm³). En el diferencial manual, los valores relativos obtenidos fueron de (1-11%) y absolutos (0.02-1.35 x 10³/mm³).

El Sysmex XT 1800i tiene un límite de detección de hasta 0.1%, el cual no es posible en el conteo manual, teniendo éste un valor límite de 1%. En 20 muestras no se detectaron granulocitos inmaduros al conteo manual, en comparación con el XT1800i, el cual sí reportó estas células con valores de 0.1-0.9%.

En la comparación entre valores absolutos, se obtuvo un coeficiente de correlación de r: 0.55, lo que sugiere una débil correlación entre estos métodos (*figura 1 y cuadro I*). En cuanto a las medias, los resultados fueron X: 0.357 y Y: 0.284.

Discusión

En diversos reportes se ha demostrado el uso de este parámetro para el seguimiento y monitoreo de pacientes con procesos infecciosos bacterianos severos, encontrándose una buena correlación, entre granulocitos inmaduros y otros marcadores

Cuadro I. Resultados de la regresión lineal.

| | |
|----------------------------|----------------------------|
| Media X: 0.357 | Media Y: 0.284 |
| Desviación estándar: 0.448 | Desviación estándar: 0.439 |
| Pendiente: 0.54 | Pendiente: 0.56 |
| Intercepto: 0.09 | Intercepto: 0.20 |

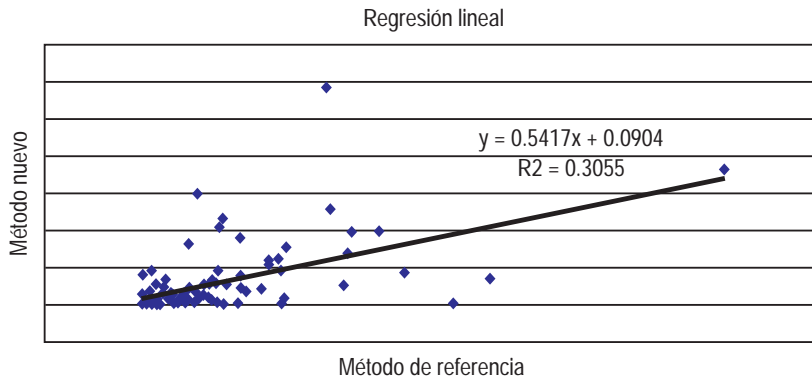


Figura 1. Gráfico de regresión lineal. X: método de referencia (conteo manual), Y: método nuevo (conteo automatizado).

de inflamación, como velocidad de sedimentación globular y proteína C reactiva.

Valores relativos de 1% son indicativos de una inflamación aguda, y sobre 3% lo son de procesos inflamatorios severos e infección sistémica. El estudio realizado por Saenz F y colaboradores³ muestra valores de referencia de este parámetro de $0.03 \times 10^3/\text{mm}^3$ y relativos de 0.4%.

En un laboratorio central es importante evaluar el desempeño de sus analizadores automáticos, en los diferentes parámetros, tomándose en cuenta que se procesan muestras de mujeres embarazadas, recién nacidos y pacientes de terapia intensiva en los cuales frecuentemente se presentan granulocitos inmaduros. Por esta razón, siempre que se encuentra alguna alarma, se corrobora mediante el conteo manual, para una mejor evaluación de la morfología de los componentes hematológicos.

El método manual todavía tiene algunas ventajas sobre el conteo automatizado; una de ellas es la identificación de anomalías en la morfología eritrocitaria, leucocitaria y plaquetaria, la cual puede ser diagnosticada al observar el extendido de sangre periférica. Aunque son muchos los avances tecnológicos en los contadores automatizados, este estudio demostró que aún es importante corroborar los resultados con el ojo humano, ya que

estos aparatos todavía no son tan sensibles para la detección morfológica de granulocitos inmaduros. Habrá que seguir estudiando los nuevos contadores automatizados que salen al mercado y sus innovadores mecanismos.

Referencias

105

1. Buttarello M, Plebani M. Automated blood cell counts: State of the art. *Am J Clin Pathol.* 2008; 130 (1): 104-16.
2. Weiland HK, Heihn H. Evaluation of the automated immature granulocyte count (IG) on Sysmex XE-2100 automated haematology analyser vs visual microscopy (NCCLS H20-A). *Sysmex J Internat.* 2002; 12: 63-70.
3. Saenz F et al. Granulocitos inmaduros: Valores de referencia empleando analizador SYSMEX X-2100. *Rev Mex Patol Clin.* 2010; 57 (4): 163-169.
4. Ike et al. Comparison of haematological parameters determined by the Sysmex KX - 21N automated analyzer and the manual counts. *BMC Clin Pathol.* 2010; 10: 3.
5. Briggs C et al. Performance evaluation of the Sysmex XE-2100, Automated Haematology Analyser. *Sysmex J Internat.* 1999; 9: 113-119.
6. Balamurugan S, Jayapriya S, Jeya M, Ramesh R. Automated measurement of immature granulocytes: Performance characteristics and utility in routine clinical practice. *Pathol Res Internat.* 2012; 2012: 6.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference leukocyte differential count (Proportional) and evaluation of instrumental methods; Approved Standard, NCCLS document H20-A (ISBN 1-56238-131-8) NCCLS, 771 East Lancaster Avenue, Villanova, PA 19085, 1992.
8. Sysmex Corporation Kobe (Japón). Manual de analizador hematológico automático XT-2000i -1800i instrucciones de uso, 2002.