



**FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**“UTILIDAD DEL RECUENTO ÓPTICO DE UN ANALIZADOR HEMATOLÓGICO  
PARA LA CORRECCIÓN DE VALORES INCREMENTADOS DE CHCM INEN –  
2019”**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN  
TECNOLOGÍA MÉDICA EN LA ESPECIALIDAD DE LABORATORIO Y ANATOMÍA  
PATOLÓGICA

**AUTOR**

**HUERTA ANDRADE KATIA SOFIA**

**ASESOR**

AVELINO CALLUPE PAUL FORTUNATO

**JURADOS**

GUTIERREZ PAUCAR ROSA ANTONIA

PRADO MAGGIA CARLOS TORIBIO

RETAMAL SALAZAR ALEJANDRO AUGUSTO

**Lima – Perú**

**2021**

## **Dedicatoria**

A mis padres Jovina Andrade Figueroa y Roli Huerta Bayona por ser gran ejemplo de superación y esfuerzo, por brindarme su apoyo incondicional y ser el soporte en todo aspecto de mi vida. A mis abuelos maternos, por su amor infinito y su paciencia, a quienes amo con toda el alma, a mis padrinos por el cariño, la confianza y ser parte de mi vida. A mis hermanas con las que comparto la mayor parte de mis días, a quienes apoyare en cada uno de sus pasos.

### **Agradecimiento**

En primer lugar, a Dios por no haberme abandonado en cada paso que doy y siempre me dio fuerza y salud para conseguir todas mis metas. A mi alma mater Universidad Nacional Federico Villarreal, por ser el haberme formado en valores y conocimientos para ejercer esta hermosa carrera, la cual practicare con vocación. Al Instituto Nacional de enfermedades Neoplásicas por acogerme un año para realizar mis practicas preprofesionales, donde conocí grandes profesionales y permitirme realizar mi proyecto de investigación en esta prestigiosa institución.

Agradecimiento a mi asesor de tesis Paul Avelino

Callupe por ser mi guía durante todo el desarrollo de la tesis. Agradecimiento al Mg. Billy Sánchez Jacinto por su disposición a brindarme las herramientas y conocimientos.

*UTILIDAD DEL RECUENTO ÓPTICO DE UN ANALIZADOR HEMATOLÓGICO PARA LA  
CORRECCIÓN DE VALORES INCREMENTADOS DE CHCM INEN – 2019*

**AUTOR**

Huerta Andrade, Katia Sofia

## Índice

Resumen (palabras clave).....	7
Abstract (key words).....	8
I.    Introducción.....	9
1.1    Descripción y Formulación del Problema.....	10
1.2    Antecedentes.....	13
1.3    Objetivos.....	18
1.3.1    Objetivo general.....	18
1.3.2    Objetivos específicos.....	18
1.4    Justificación.....	20
II.   Marco Teórico.....	22
2.1    Bases teóricas sobre el tema de investigación.....	22
III.  Método.....	32
3.1    Tipo de investigación .....	32
3.2    Ámbito Temporal y Espacial.....	33
3.3    Variables.....	33
3.4    Población y Muestra.....	34
3.4.1    Población.....	34
3.4.2    Muestra.....	35
3.5    Instrumentos.....	36
3.6    Procedimientos.....	36
3.7    Análisis de Datos.....	37
IV.  Resultados.....	40
V.   Discusión de resultados.....	55
VI.  Conclusiones.....	58

VII.	Recomendaciones.....	63
VIII.	Referencias Bibliográficas.....	64
IX.	Anexos.....	70

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar la utilidad del recuento óptico de un analizador hematológico para la corrección de valores incrementados de CHCM del servicio de Hematología del INEN durante los 7 meses consecutivos del año 2019. El método empleado fue de tipo descriptivo - observacional, con un diseño no experimental, transversal.

Para definir la capacidad del analizador en proporcionar resultados idénticos para los parámetros RBC, HGB Y CHCM utilizando el método de impedancia/fotometría y método óptico se emplearon los datos de 500 muestras (grupo 1) con CHCM < 366g/L (sin aglutininas frías). Después se clasificó en un segundo grupo de 48 muestras (grupo 2) con CHCM > 365g/L (con aglutininas frías).

En el grupo 1 y grupo 2 se halló una buena correlación entre impedancia/fotometría y método óptico para los parámetros RBC y HGB, mas no para el parámetro CHCM. El sesgo obtenido al comparar los métodos de impedancia y los obtenidos en el canal óptico para el grupo 1 estaban por encima de los límites de aceptabilidad informado por Ricos et al (2014) para los parámetros RBC, HGB y CHCM. En cambio, para el grupo 2, donde se comparan los resultados por impedancia de muestras precalentadas a 37°C con los obtenidos por método óptico muestran un sesgo insignificante para el parámetro RBC

En conclusión, se logra obtener un CHCM<366 g/L a través del canal óptico. Sin embargo, el método de impedancia/fotometría y método óptico no se pueden usar indistintamente para los parámetros de HGB y CHCM.

Palabras clave: método óptico, impedancia, aglutininas frías, CHCM, RBC, HGB, analizador.

## ABSTRACT

The aim of the study was to evaluate the utility of the optical count of a hematological analyzer for the correction of increased CHCM values of the Hematology lab of INEN during the 7 consecutive months of 2019. The method used was descriptive-observational, the study design was a non-experimental, cross-sectional.

To define the analyzer's capability to provide identical results for the RBC, HGB, and CHCM parameters using the impedance/photometry method and the optical method, data from 500 samples (group 1) with CHCM<365g/L (without cold agglutinins) were used. Then, the results were classified into a second group of 48 samples (grupo 2) which showed a CHCM>365g/L (with cold agglutinins)

In group 1 and group 2, a good correlation was found between impedance/photometry and optical method for the RBC and HGB parameters, but not for the CHCM parameter. The bias obtained to compare the impedance method and those detected in the optical channel for group 1 were above the acceptability limits reported by Ricos et al (2014) for the RBC, HGB and CHCM parameters. On the other hand, for group 2, where the results by impedance of preheated samples at 37 ° C are compared with those detected by the optical method show an insignificant bias for the RBC parameter.

To sum up, it is possible to obtain a CHCM<366 g/L through the optical channel. However, the impedance/photometry method and the optical method can not be used interchangeably for the HGB and CHCM parameters.

Key words: optical method, impedance, cold agglutinins, CHCM, RBC, HGB, analyzer.

## I. Introducción

El CHCM (concentración de hemoglobina corpuscular Media) es un parámetro útil para detectar deshidratación celular del eritrocito, y cuando los valores se encuentran incrementadas es un indicador de una condición patológica compatible con la esferocitosis hereditaria, la cual debe ser confirmada contrastando con el cuadro clínico y la evaluación de otros parámetros analíticos.

Por otro lado, el CHCM elevado también puede asociarse a factores intrínsecos de la muestra que pueden alterar los valores, tal como las crioaglutininas o aglutininas frías que son un interferente que ocasionan aglutinación in vitro de los hematíes a temperaturas bajas provocando una falsa disminución del recuento de eritrocitos (RBC), un falso incremento del Volumen Corpuscular Medio (VCM), y un aumento alarmante del (CHCM).

Las crioaglutininas son anticuerpos de clase IgM que reaccionan a temperatura bajas de 4° a 23°C siendo un problema preanalítico y analítico dentro del laboratorio. Este tipo de interferente se revierte precalentando la muestra a 37°C por 2 horas según lo informado por Finland (1945), lo cual retrasa el informe de resultados al clínico, incumpliendo con los indicadores de calidad de tiempo de respuesta.

Existen autores que afirman que el recuento óptico por citometría de flujo no se ven afectados por interferentes como las crioaglutininas. Además, presentan buena correlación con los métodos convencionales como la impedancia eléctrica y fotometría.

Es por ello, que se plantea investigar la utilidad del recuento óptico para corregir los valores incrementados de CHCM a partir de los parámetros de células rojas (RBC-O) y hemoglobina (HGB-O) obtenidas por citometría de flujo y ya no los parámetros usuales (RBC y HGB) obtenidas por impedancia eléctrica y fotometría. De tal forma proponer una nueva herramienta analítica que mejore sus procesos.

En este estudio se evaluará una población oncológica donde existe una prevalencia relevante de casos de crioaglutininas a consecuencia de su diagnóstico, tratamientos farmacológicos o que están atravesando procesos infecciosos que ocasionan un trastorno de aglutinación.

## **1.1 Descripción y Formulación del Problema**

### **1.1.1 Descripción del tema.**

El analizador hematológico Sysmex XN 1000 es un equipo automatizado que ofrece varios parámetros que se pueden evaluar mediante diferentes principios. Los principios que manejan son el flujo hidrodinámico, la impedancia eléctrica, la citometría de flujo y la colorimetría sin cianuro (lauril sulfato) que mide la concentración de Hemoglobina (HGB). Sin embargo, no todos los parámetros, como el Volumen Corpuscular Medio (VCM), Hemoglobina Corpuscular media (HCM), Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM) y hematocrito (Hto) pueden ser evaluados directamente por estos principios, sino se calculan a partir de la cantidad de eritrocitos, los volúmenes y las concentraciones de hemoglobina.

Los valores HCM, VCM, Hto y en especial el CHCM pueden estar falsamente calculados producto de artefactos y/o interferencias de la muestra. Las causas son diferentes, puede estar relacionada a una patología del paciente tales como hemoglobinopatías, aglutinación eritrocitaria por aglutininas frías, plasma lipémico, icterico o con hemolisis que conducen a una disminución incorrecta en el recuento de glóbulos rojos, a un aumento falso en el volumen celular y, como consecuencia, a índices de eritrocitos calculados incorrectamente. El incremento de la CHCM (cuando excede 365 g/l) es una de las alertas más frecuentemente visto, el cual es corregido a través del Hto manual, incubación a baño maría a 37°C/2h cuando se sospecha de aglutininas frías. Esto resulta en un consumo de tiempo innecesario y un retraso en el reporte de los resultados al clínico. Por ello se evalúa los nuevos parámetros de células rojas (RBC-O) y hemoglobina (HGB-O) obtenidas por citometría de flujo y ya no los parámetros usuales (RBC y HGB) obtenidas por impedancia eléctrica y fotometría,

respectivamente, con el objetivo de observar que los resultados incrementados de CHCM a través de los nuevos parámetros no se vean influenciado por los artefactos.

Estos nuevos parámetros asociados con los de los reticulocitos pueden mejorar el manejo de CHCM > 365 g/L. Su interés se evaluará en este estudio retrospectivo que incluirá a pacientes desconocidos del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas que presentaron un CHCM > 365 g/L durante los 7 meses consecutivos del año 2019.

Este estudio, a corto plazo ayudará a reducir el tiempo de entrega de resultados, el uso de pruebas manuales para corregir que no nos aseguran resultados confiables. Además, la evaluación y comparación de estos nuevos parámetros nos llevaran a elaborar un mejor manejo de los CHCM elevados y un apoyo en la interpretación de estos resultados. Así como, se tomará más atención a la interpretación de los resultados de los demás parámetros hematológicos.

### **1.1.2 Formulación del problema**

La Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM) incrementada (CHCM>365 g/L) es un problema poco frecuente en la práctica clínica, se da en casos de enfermedades específicas como la anemia hemolítica autoinmune, esferocitosis hereditaria, etc. Por lo cual es relevante su medición y guía al clínico al diagnóstico adecuado.

Por otro lado, es frecuente encontrar valores de CHCM >365 g/L pero no necesariamente refleja la verdadera condición del paciente, más bien se trataría de un falso incremento. En varias ocasiones los analizadores hematológicos que utilizan los parámetros usuales (RBC y HGB), obtenidos por impedancia eléctrica y fotometría arrojan valores de índices eritrocitarios (HCM y CHCM) incrementados que dan una alarma al analista por lo cual tienen que actuar oportunamente realizando un hematocrito manual con capilar para un nuevo cálculo. La mayoría de los CHCM incrementados son producto de artefactos y/o interferencias de la muestra que conducen a una disminución incorrecta en el recuento de glóbulos rojos, a un aumento falso en el volumen celular y, como consecuencia, al cálculo de los índices de

eritrocitos incorrectos. Existen diferentes etiologías de estos artefactos, la mayoría de ellas relacionadas a una anormalidad del paciente, patologías de los eritrocitos (hemoglobinopatías y talasemias), aglutinación eritrocitaria por aglutininas frías, plasma anormal (lipémico, icterico o con hemolisis), medicamentos que alteran la estabilidad hidroléctrica de la muestra, etc.

Se tiene evidencia de estudios anteriores que el uso del recuento óptico permitiría corregir rápidamente los efectos causados por la presencia de aglutininas frías sin la necesidad de incubar a 37° y/o realizar un hematocrito manual. Además, comprueban que existe buena correlación en los valores de RBC por recuento óptico (RBC-O) y lo valores de RBC por impedancia eléctrica en pacientes normales. (Manrique Cambiazzo y Santillan, 2014, pág. 1)

#### **1.1.2.1 Problema general**

- ¿Cuál es la utilidad del recuento óptico de un analizador hematológico para la corrección de valores incrementados de CHCM, INEN 2019?

#### **1.1.2.2 Problemas específicos.**

- ¿Cuál es el coeficiente de correlación entre el parámetro de RBC por impedancia vs el RBC óptico en muestras con valores de CHCM menores a 366g/l.?
- ¿Cuál es el coeficiente de correlación entre el parámetro de HGB por fotometría a vs la HGB óptica en muestras con valores de CHCM menores a 366g/l.?
- ¿Cuál es el coeficiente de correlación entre el parámetro de CHCM vs CHCM-O en muestras con valores de CHCM menores a 366g/l.?
- ¿Cuál es el coeficiente de correlación entre el parámetro de RBC óptico vs RBC por impedancia post incubación a 37°C en muestras con valores de CHCM mayores a 365g/l?

- ¿Cuál es el coeficiente de correlación entre el parámetro de HGB óptico vs HGB por fotometría post incubación a 37°C en muestras con valores de CHCM mayores a 365g/l?
- ¿Cuál es el coeficiente de correlación entre el parámetro de CHCM-O vs CHCM post incubación a 37°C en muestras con valores de CHCM mayores a 365g/l?
- ¿Cuál es la concordancia entre el método de impedancia vs el método óptico para el parámetro RBC en muestras con valores de CHCM menores a 366g/l?
- ¿Cuál es la concordancia entre la fotometría vs el método óptico para el parámetro HGB en muestras con valores de CHCM menores a 366g/l?
- ¿Cuál es la concordancia entre el método de impedancia vs el método óptico para el parámetro CHCM en muestras con valores de CHCM menores a 366g/l?
- ¿Cuál es la concordancia entre el método de impedancia post incubación a 37°C vs el método óptico para el parámetro RBC en muestras con valores de CHCM mayores a 365g/l?
- ¿Cuál es la concordancia entre la fotometría post incubación a 37°C vs el método óptico para el parámetro HGB en muestras con valores de CHCM mayores a 365g/l?
- ¿Cuál es la concordancia entre el método de impedancia post incubación a 37°C vs el método óptico para el parámetro CHCM en muestras con valores de CHCM mayores a 365g/l?

## 1.2 Antecedentes

Roccaforte et al. (2019). En su estudio prospectivo “Uso del canal de reticulocitos calentado a 41°C del analizador XN-9000 en muestras con presencia de aglutininas frías” tuvo como objetivo comparar los datos obtenidos del canal de reticulocitos (canal RET) calentado a 41 °C con los obtenidos del canal de impedancia (canal I) a temperatura ambiente

en las muestras con la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM)  $< 370$  g / L y en muestras con CHCM  $> 370$  g / L, en presencia de aglutininas frías. Se usó 60 muestras de sangre con CHCM  $< 370$  g / L (sin aglutininas frías) y 78 muestras de sangre con CHCM  $> 370$  g / L (con aglutininas frías) para comparar los dos canales analíticos del analizador XN- 9000 en diferentes condiciones preanalíticas. Los parámetros evaluados en ambos grupos fueron los siguientes: glóbulos rojos (RBC), hemoglobina (HGB), hematocrito (HCT), volumen celular promedio (VCM), volumen más frecuente de RBC (R-MFV), concentración media de hemoglobina (HCM) y la concentración media de hemoglobina celular (CHCM).

Los resultados del grupo 1 mostraron una excelente correlación con ambos canales (R entre 0.94 y 0.99) del analizador XN-9000 en muestras con y sin aglutininas frías, excepto para el CHCM ( $r = 0.69$ ). Además, no se observaron diferencias estadísticamente significativas para los parámetros estudiados.

Berda-Haddad et al. (2016). En su estudio prospectivo “Concentración de hemoglobina corpuscular media incrementada: artefacto o condición patológica” tuvieron como objetivo establecer un "árbol de decisión" utilizando los nuevos parámetros de glóbulos rojos (RBC-O) y hemoglobina (HGB-O) del Sysmex XN-10 RET obtenidos por citometría de flujo para corregir y/o corroborar los resultados CHCM  $> 365$  g/l. Para ello utilizaron 128 pacientes desconocidos con CHCM  $> 365$  g / L, todos los parámetros de eritrocitos, incluidos los parámetros de reticulocitos, midieron y analizaron en paralelo con frotis de sangre, índice químico y osmolaridad. También informaron las diferencias entre los parámetros ópticos (RBC-O, HGB-O) y los parámetros habituales (RBC, HGB) obtenidos por impedancia y fotometría. Definieron cuatro grupos a partir de las observaciones: aglutinación de RBC ( $n = 22$ ); Interferencia óptica ( $n = 17$ ); Enfermedad de RBC ( $n = 18$ ); y otros ( $n = 71$ ). En conclusión, el uso de RBC-O y HGB-O les permitió una corrección eficiente de las anomalías cuando la aglutinación de RBC y / o la interferencia óptica estaban presentes en 36 de 39 pacientes. Los

parámetros de reticulocitos permitieron elaborar una puntuación de RBC que permitió una detección altamente sensible de pacientes con enfermedad de RBC (17/18).

Sobre la base de nuevos parámetros, propusieron un "árbol de decisiones" que ofrece ahorros de tiempo y apoya la interpretación biológica en caso de CHCM elevado. Este árbol de decisiones se definió para proporcionar orientación de la siguiente manera: Para un delta RBC  $>5\%$  y un delta HGB  $> -6\%$ , se hace un extendido para observar los hematíes aglutinados y son reportados los resultados emitidos por el analizador: RBC-O (medición óptica), R-VMF (volumen más frecuente de glóbulos rojos) y la hemoglobina (fotometría).

Para un delta RBC  $>5\%$  y un delta HGB  $\leq -6\%$ , se hace un extendido para ver aglutininas frías y hemolisis y del analizador hematológico se reporta RBC-O, R-VMF y la HGB (medido por canal óptico). Para delta RBC  $\leq 5\%$  y un delta HGB  $\leq -6\%$  y a su vez tiene un RBC score  $> 0.127$  se hace un extendido para ver morfología y ver tubo para observar la presencia de hemolisis, si se encuentra hemolisis se reporta RBC, VCM (volumen corpuscular medio) y HGB-O, si no lo hay se reportan RBC, VCM, HGB. Para delta RBC  $\leq 5\%$  y un delta Hb  $\leq -6\%$  con un RBC score  $\leq 0.127$  se observa el tubo para ver si hay presencia de turbidez o hemolisis. Si hay presencia de turbidez se reporta RBC, VCM y HGB-O, si se visualiza hemolisis se discute el resultado con el clínico. En caso de duda se solicita nueva muestra y no se validan los resultados. Si el plasma está claro se reporta RBC, VCM y HGB. Para delta  $\leq 5\%$  y delta HGB  $< -6\%$  se revisa las condiciones preanalíticas y la osmolaridad y se reporta RBC, VCM y HGB. (p. 32)

Manrique et al. (2015). En su investigación "Utilidad del parámetro RBC-O del Sysmex XN-1000 para detección y corrección del efecto de las crioaglutininas" realizaron un trabajo utilizando el parámetro RBC-O (rojos ópticos) del Sysmex XN-1000 con el objetivo de detectar y corregir el efecto de las crioaglutininas en muestras de pacientes. Para ello analizaron cuatro muestras con sospecha de presencia de crioaglutininas. En el analizador en forma manual se

procesará en el canal de RET) a temperatura ambiental y después de la incubación a 37°C. Se obtuvieron los resultados de los parámetros RBC-O y RBC en ambas temperaturas. Se evidencia la presencia de crioaglutininas ya que se corrige los parámetros alterados (Hto, VCM, RBC, HCM y CHCM) post incubación a 37°C. Calcularon el siguiente delta:  $\text{Delta RBC\%} = ((\text{RBC-O} - \text{RBC}) / \text{RBC}) \times 100$  y compararon el resultado con el rango propuesto en la bibliografía para la detección de crioaglutininas. Observaron que el valor de RBC-O a temperatura de ambiente tiene muy buena correlación ( $R^2=0,992$ ) con el valor de RBC por impedancia post incubación a 37°C. Los delta RBC% dieron una media, una mediana y un rango cercano a lo propuesto en la bibliografía para pacientes con crioaglutininas, lo que permitiría diferenciarlos de otras interferencias. (p. 1)

Ferrero-Vacher et.al. (2014). En su reporte de un caso “Parámetros eritrocíticos de Sysmex en un caso de hemólisis severa” reportaron un caso de anemia hemolítica severa con aglutininas frías que combina varias determinaciones falsas. Este reporte tuvo como finalidad mostrar la utilidad de los nuevos parámetros eritrocíticos del XE 5000 Sysmex, especialmente: glóbulos rojos con recuento óptico (RBC-O), GR-He (hemoglobina intra- eritocítica) y R-VMF (volumen más frecuente). El hematocrito (Hto) se corrige a través de la siguiente fórmula:  $\text{Hto} = (\text{RBC-O} \times \text{R-VMF}) / 1000$  y la hemoglobina (HGB) se corrige por medio de GR- He a través de la siguiente fórmula:  $\text{HGB} = (\text{GR He} \times \text{RBC-O}) / 10$ . En conclusión, este caso clínico muestra un modelo para el estudio de las interferencias de la fórmula de numeración, el conocimiento de los medios de corrección necesarios y/o el uso de los nuevos parámetros para corregirlos. (p. 729)

La Gioia et al. (2018) en su estudio “El precalentamiento corto a 41 ° C produce un conteo de glóbulos rojos comparable a la del canal RET del analizador Sysmex en muestras que muestran aglutinación en frío” tuvo como objetivo evaluar la utilidad del canal RET del analizador Sysmex en muestras con aglutininas frías, con la hipótesis que los resultados son comparables

con la técnica de precalentamiento a 37°C/2h por impedancia y evalúa la influencia de los pretratamientos sobre el recuento de eritrocitos. Este estudio se realizó en 96 muestras (grupo A: 48 con un CHCM en rangos normales y grupo B: 48 con CHCM > 370g/L) que han sido analizados en diferentes condiciones preanalíticas. Las muestras de control (grupo A; n = 48) mostraron una fuerte correlación (CCI) a temperatura ambiente entre todos los parámetros considerados en el canal I (HGB-I, RBC-I, MCV-I y CHCM-I) y los parámetros correspondientes al canal O (HGB-O, RBC-O, R-MFV, CHCM-O). así como también, entre todos los parámetros medidos en el canal I a 37 ° C / 2h y los mismos parámetros en el canal O en RT y además no ven afectados a los pretratamientos. Los resultados más relevantes de las muestras del grupo B se obtuvo diferencias significativas en el recuento entre RBC-I y RBC-O (P<0.05) así como también entre los parámetros: VCM y R-MFV (P <0.005), entre CHCM-I y CHCM-O (p <0.05). también se observaron diferencias no significativas entre RBC-I precalentado a 37 ° C / 2 horas y RBC-O básico (P = 0.172) así como entre cada uno de los parámetros considerados (HGB: p = 0.991; MCV / R-MFV: p = 0.154; CHCM-I / CHCM-O: p = 0.299).

Wang H et al. (2013) en el estudio “Uso de los parámetros RBC-O y S-MCV de Sysmex XE-2100 en un paciente con aglutinación fría de RBC” se observó un problema frecuente detectado sobre todo en pacientes con linfoma en la cual la aglutinación de eritrocitos no pudo ser resuelto por incubación a 37°C. Por lo cual, plantearon la idea de usar los parámetros RBC-O y S-VCM del analizador hematológico del SYSMEX XE-2100 con el objetivo de corregir las mediciones alteradas por la aglutinación de eritrocitos. En primera instancia, diluyeron la muestra con solución 0,9% de cloruro de sodio en las mismas proporciones antes de la medición. El Hto, VCM y CHCM fueron corregidos por RBC-O, HGB y S-VCM (volumen corpuscular media). En conclusión, estos casos te indican que RBC-O y S-MCV del XE-2100 pueden ser usados

en la examinación diaria de muestras que tengan aglutinación eritrocitaria a temperatura de ambiente. (p. 217)

Zandecki et al. (2007) en su estudio “Recuentos con interferencias y resultados con interferencias en analizadores de hematología: una revisión. Parte II: glóbulos blancos, glóbulos rojos, hemoglobina, índices de glóbulos rojos y reticulocitos” realizaron una revisión de la literatura para describir las causas que pueden actuar como interferencias y dar mediciones erróneas en los parámetros de glóbulos blancos, hematíes, hemoglobina, índices eritrocitarios y reticulocitos. Se logró observar que a pesar de que los analizadores hematológicos son un gran avance para la tecnología y dan resultados rápidos y precisos son sus susceptibles a interferencias que conducen a una medición anormal de los parámetros de hemoglobina o recuento de eritrocitos que a su vez dará lugar a índices eritrocitarios calculados erróneamente como por ejemplo la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) que es sin duda el índice eritrocitario más importante a considerar. (p. 21)

Hasta la fecha no se ha encontrado publicado en el ámbito nacional ningún trabajo que me sirva como antecedente.

### **1.3 Objetivos**

#### **1.3.1 Objetivo general**

- Demostrar la utilidad del recuento óptico de un analizador hematológico para la corrección de valores incrementados de CHCM, INEN – 2019.

#### **1.3.2 Objetivos específicos**

- Obtener el coeficiente de correlación entre el parámetro de RBC por impedancia vs el RBC óptico en muestras con valores de CHCM menores a 366g/l.
- Obtener el coeficiente de correlación entre el parámetro de HGB por fotometría vs la HGB óptica en muestras con valores de CHCM menores a 366g/l.

- Obtener el coeficiente de correlación entre el parámetro CHCM vs CHCM-O en muestras con valores de CHCM menores a 366g/l.
- Obtener el coeficiente de correlación entre el parámetro de RBC óptico vs RBC por impedancia post incubación a 37°C en muestras con valores de CHCM mayores a 365g/l
- Obtener el coeficiente de correlación entre el parámetro de HGB óptico vs HGB por fotometría post incubación a 37°C en muestras con valores de CHCM mayores a 365g/l
- Obtener el coeficiente de correlación entre el parámetro CHCM 37°C vs CHCM-O en muestras con valores de CHCM mayores a 365g/l.
- Evaluar la concordancia entre el método de impedancia vs el método óptico para el parámetro RBC en muestras con valores de CHCM menores a 366g/l
- Evaluar la concordancia entre la fotometría vs el método óptico para el parámetro HGB en muestras con valores de CHCM menores a 366g/l
- Evaluar la concordancia entre el método de impedancia vs el método óptico para el parámetro CHCM en muestras con valores de CHCM menores a 366g/l?
- Evaluar la concordancia entre el método de impedancia post incubación a 37°C vs el método óptico para el parámetro RBC en muestras con valores de CHCM mayores a 365g/l
- Evaluar la concordancia entre la fotometría post incubación a 37°C vs el método óptico para el parámetro HGB en muestras con valores de CHCM mayores a 365g/l
- Evaluar la concordancia entre el método de impedancia post incubación a 37°C vs el método óptico para el parámetro CHCM en muestras con valores de CHCM mayores a 365g/l

## 1.4 Justificación

En la práctica diaria, se observa que, en los laboratorios de hematología, un CHCM incrementado por interferencia puede inducir una alarma analítica y necesita una acción correctiva rápida para garantizar la entrega de los resultados correctos al clínico.

Esto se consigue realizando un hematocrito manual con un capilar, lo cual no nos garantiza un resultado confiable porque existe un grado de error al igual que muchos de las pruebas manuales. Además, el tiempo acumulado que requiere provoca un retraso en el informe de resultados y muchos de estos pueden pasar por alto debido a la alta demanda de muestras analizadas. Esto puede guiar al clínico a una conclusión diagnóstica equivocada y someter al paciente a otros estudios complementarios innecesarios o peor aún recibir un tratamiento.

Uno de los problemas más frecuentes en la práctica de laboratorio son las aglutininas frías. Mientras que la aglutinación de glóbulos rojos causa síntomas clínicos de anemia hemolítica, la aglutinación causada por la aglutinina fría es un factor pre-analítico y analítico notorio que conduce a resultados con interferentes de recuento sanguíneo automático. Aunque la aglutinación de los glóbulos rojos aumenta falsamente el volumen corpuscular medio (VCM), los efectos de la aglutinina fría en otros parámetros que no han sido ampliamente estudiados. Es por ello que en esta investigación pretendemos dar la importancia en el uso adecuado de los parámetros del recuento óptico en valores incrementados por interferencia del CHCM.

Llevar a cabo este trabajo de investigación significará el uso de nuevos parámetros como herramientas que nos aseguren resultados confiables, reducción del tiempo de entrega de los resultados al clínico que va de la mano un mejor manejo de la condición de salud del paciente de manera oportuna y que el tiempo utilizado para corregir esos valores servirá para tomar más atención en la validación de los resultados emitidos y enfocar los sentidos en la interpretación de otros parámetros que también resultan relevantes. Como aporte nacional se espera que este

estudio pueda ser reproducido en otras instituciones que utilicen la misma tecnología y principio que a su vez presentan los mismos problemas.

## **II. Marco Teórico**

### **2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación**

#### **2.1.1 Analizadores Hematológicos Automatizados**

Los analizadores hematológicos hoy en día han evolucionado significativamente su capacidad para el procesamiento de muestras debido a su elevada complejidad y mayor productividad.

Según la marca comercial a la que pertenezcan. Todos ellos tienen características comunes, como los sistemas de aspiración y dilución de la muestra, los controles del flujo de células y los dispositivos electrónicos de análisis de resultados (García et al., 2015, p. 260)

Los componentes básicos que se pueden encontrar son: diluyente, aspirador, sistema de fluidos, cámara de recuento o dispositivo de medida, transductor o detector, discriminador, amplificador. (Hernández, Fernández y Bastidas, 2015, p. 26)

#### **2.1.2 Principios de los analizadores hematológicos**

##### **2.1.2.1 Principio de Citometría de flujo.**

Esta técnica permite la identificación, caracterización y aislamiento de células por medios ópticos, basándose en las propiedades físicas, químicas o inmunológicas. Entre las propiedades se incluyen el tamaño, la forma, el contenido de ADN, la distribución de antígenos y la actividad enzimática. (Suardíaz, Cruz y Colina, 2004, p. 58)

Para realizar los recuentos, los eritrocitos son lisados. Después, para poder hacer evidente la actividad de la peroxidasa, los leucocitos serán coloreados lo cual nos permitirá hacer la identificación (absorbancia de la luz) y conocer sus dimensiones (dispersión de la luz) al pasar individualmente, una tras otra, entre dos detectores.

Las poblaciones celulares se muestran en una pantalla; el eje vertical indica el tamaño celular y el horizontal, la intensidad de la coloración peroxidásica. (Suardíaz et al., 2004)

Las poblaciones celulares se muestran en una pantalla; el eje vertical indica el tamaño celular y el horizontal, la intensidad de la coloración peroxidásica. (Suardíaz et al., 2004, p. 57)

### **2.1.2.2 Principio de dispersión de la luz**

Es una técnica de análisis multiparamétrico donde la muestra de sangre diluida pasa a través de un detector celular colocado en el paso de luz de un rayo luminoso muy estrecho. Se basa en el paso de las células que interrumpen la luz y la cantidad de estas interrupciones es recolectada por un detector y así se obtiene el recuento de células. El diámetro celular se logra por la dispersión de la luz, la cual es una suma de un conjunto de propiedades celulares como el volumen, el contorno y la granulosidad. De todas ellas, el tamaño es la más importante. (Suardíaz et al., 2004, p. 56)

Los instrumentos de dispersión lumínica han evolucionado para evitar artefactos de este tipo. Las células se redondean isovolumetricamente, de forma que sus características de dispersión lumínica son uniformes y deben seguir las leyes de la física. La dispersión de la luz provocada por cada célula individual se mide en dos ángulos: hacia delante (Forward Scatter, del inglés FSC) y lateralmente (Side Scatter, de las siglas en inglés SSC) con un ángulo de 90°, lo que permite el computo tanto de su volumen como de su concentración de hemoglobina; la última medición se designa como la media de la concentración de hemoglobina celular (MCHC) para diferenciarla de la CHCM obtenida a partir de la hemoglobina y del hematocrito. Si todas las mediciones son exactas, la MCHC y la CHCM deberían dar los mismos resultados, proporcionando así un mecanismo de control de calidad interno (Lewis y Bates, 2008)

### **2.1.2.3 Principio de impedancia eléctrica.**

En este sistema, las células se suspenden en una solución diluyente que tiene como característica principal una conductividad fija. Cuando estas células pasan a través de una

pequeña abertura u orificio, se produce un cambio en la impedancia (resistencia) de una corriente eléctrica constante que atraviesa esta abertura. Los impulsos producidos se registran y permiten calcular, según el número de interrupciones, la cantidad de células. (Suardíaz et al., 2004, p. 56)

Con la tecnología de impedancia eléctrica, el número de impulsos generados permite la determinación del recuento eritrocitario y plaquetas. (Lewis y Bates, 2008)

### **2.1.3 Parámetros ópticos en el analizador hematológico**

El método óptico se aplica mayormente en la realización automática del recuento diferencial de leucocitos y en el estudio de la composición interna de las células, aunque también se aplica en la realización de los conteos celulares y medición de los volúmenes celulares.

El método óptico se basa en la medición de la intensidad. Las células suspendidas pasan una tras otra a través de una zona donde un haz de luz incide de forma perpendicular provocando a interrupción y dispersión lumínica de la energía radiante en diversos ángulos. La cantidad de interrupciones va a ser directamente proporcional al número de células que atraviesan por la zona sensible del aparato y la magnitud de su dispersión será una función de distintas propiedades o características celulares, dentro de las que pueden citarse el volumen celular, el tamaño, el contorno y el índice de refracción que constituye una función del contenido celular (presencia de granulaciones, coloración, lobularidad nuclear, entre otros). (Sysmex, 2019)

#### **2.1.3.1 Recuento óptico de RBC (RBC-O).**

El recuento óptico de RBC (RBC-O) es un parámetro medido, que corresponde al recuento total de eritrocitos.

Se genera a través del Canal RET del analizador automatizado Sysmex, donde una solución surfactante perfora ligeramente las membranas celulares de los eritrocitos, leucocitos y plaquetas y, de este modo, permite al marcador fluorescente penetrar en la

célula. En seguida, la solución fluorescente marca los ácidos nucleicos (AN) de los leucocitos, hematíes nucleados, reticulocitos y plaquetas. A través de la luz con dispersión hacia adelante y la señal fluorescente, los reticulocitos pueden separarse entre eritrocitos, leucocitos y eritrocitos nucleados maduros y realizar su respectivo recuento óptico. (Sysmex, 2019)

### **2.1.3.2 Medición óptica de hemoglobina (Hb-O).**

La medición óptica de Hb-O es un parámetro calculado derivado principalmente del recuento de RBC-O y el contenido de hemoglobina RBC (RBC-He). Este parámetro se basa en la medición de difracción de ángulo bajo en el canal óptico y ya está correlacionado con HCM para pacientes normales. (Sysmex, 2019)

### **2.1.3.3 Índices eritrocitarios.**

- Concentración de hemoglobina corpuscular media.

Es la concentración promedio de hemoglobina por mililitro (mL) de hematíes. En adultos, el rango de referencia oscila entre 32-36 %. Una forma de calcularla es usando las mediciones de hemoglobina y de hematocrito o medida directamente mediante luz láser y su grado dispersión. (Hernández et al., 2015, p. 33)

- Hemoglobina corpuscular media.

Es el promedio de la cantidad de Hb por hematíe. El valor de referencia es de 28 – 32 pg. se halla a partir de la concentración de Hb y el recuento de eritrocitos. (Hernández et al., 2015, p. 33)

- Volumen corpuscular medio.

Es el promedio del volumen de los hematíes. Los valores de referencia son de 82 – 95 fl.

El volumen corpuscular puede ser obtenido directamente por la técnica de dispersión de luz laser o a partir del histograma de distribución de volumen, el primero es considerado un gran avance tecnológico. (Hernández et al., 2015, p. 31).

## **2.1.4 Principios y características del equipo Sysmex**

### **2.1.4.1 Sysmex serie XN.**

Los sistemas de hematología de la serie XN introducen canales de análisis celular. Un sistema que incluye nuevos reactivos lisantes celulares específicos y colorantes fluorescentes que permiten un análisis a un nivel más profundo.

### **2.1.4.2 Sysmex Serie XN: Canales**

- Canal de reticulocitos.

Los parámetros que se obtienen por el canal de reticulocitos brindan a los clínicos información completa acerca de la función de la eritropoyesis. Mientras los hematíes en sangre periférica se clasifican y diferencian según su tamaño y fase de maduración. Esto proporciona información cuantitativa y cualitativa, y es una medición celular directa de la eritropoyesis. (Sysmex, 2019)

Utiliza una tecnología de dispersión frontal y fluorescencia lateral. Se reportan los parámetros RET#, RET%, IRF (fracción de reticulocitos inmaduros) y RET-He (hemoglobina del reticulocito) y los reactivos utilizados son Cellpack DFL, Fluorocell RET. (Sysmex, 2019)

### **2.1.4.3 Sysmex serie XN: Principios y tecnología**

- Citometría de flujo con fluorescencia.

La citometría de flujo con fluorescencia analiza las propiedades fisiológicas y químicas de las células. También es capaz de analizar otras partículas biológicas en analizadores de orina. Básicamente proporciona información sobre el tamaño, la estructura de las células e interior de las células. En la citometría de flujo las partículas fluyen a través de un flujo laminar lo que permite examinar las células. Primero, se aspira la muestra de sangre y se dirigen a diferentes canales; luego, se diluye a un factor establecido y se colorea con un marcador fluorescente patentado que penetra las células y se fija sobre los ácidos nucleicos. A continuación, la muestra atraviesa la cámara de flujo y se excita mediante un láser semiconductor, que es capaz de

clasificar las células mediante tres señales diferentes: Forward Scatter (FSC), Side Scatter (SSC) y Side Fluorescence (SFL). El Forward Scatter nos indica el volumen de la célula, mientras que el Side Scatter nos ofrece información sobre la complejidad celular como, por ejemplo, sobre el núcleo y los orgánulos. La fluorescencia es proporcional a la cantidad de ADN y ARN presente en la célula. Las células que poseen similitud forman un grupo en un gráfico que se denomina diagrama de dispersión.

Concretamente, en el recuento de células se utiliza la citometría de flujo con fluorescencia, p. ej., para el recuento de leucocitos y hematíes nucleados, para la medida de reticulocitos y el recuento diferencial leucocitario. En los analizadores de orina, la tecnología de fluorescencia se utiliza para contar bacterias, hematíes, leucocitos y otros elementos. (Sysmex, 2019)

XN-10 RET puede proporcionar un recuento de eritrocitos (RBC-O) utilizando citometría de flujo de fluorescencia después de la estabilización y el calentamiento a 41°C en la cámara de incubación. El RBC-O es un parámetro medido, que corresponde al recuento total de eritrocitos, incluidos los recuentos de reticulocitos, mientras que HGB-O es un parámetro calculado principalmente derivado del contenido de hemoglobina RBC-O y RBC (RBC-He) (Berda-Haddad et al., 2016, p.34)

- Corriente directa y enfoque hidrodinámico.

Se utiliza el método de detección de flujo envolvente de corriente continua para contar los eritrocitos y las plaquetas. Una parte de la sangre se separa y se prepara una dilución según el factor preestablecido. De esta dilución se envía una cantidad definida a la cámara de detección, pasando a través de un pequeño agujero. A cada lado del agujero hay unos electrodos, a través de los cuales pasa una corriente continua. La resistencia de la corriente continua entre los electrodos cambia a medida que las células sanguíneas suspendidas en el diluyente pasan por la apertura. Esta resistencia provoca un cambio en el pulso eléctrico proporcional al tamaño de la célula sanguínea. Estos datos eléctricos se convierten en representaciones gráficas mediante

curvas de distribución del volumen o histogramas. Una vez las células salen por la boquilla de muestra, se ven rodeadas por un flujo envolvente de diluyente. Llegado este punto, se alinean y pasan al centro del orificio. Con ello se reducen los errores por interferencias y la posibilidad de una detección anómala de pulsos de células, que podría estar causada por el paso de las células a través de un punto que no sea el centro del transductor. Tan pronto como las células hayan pasado por el orificio, otro flujo inverso las capturará enviándolas inmediatamente al desagüe. Con ello se evita una nueva circulación y un cambio en el recuento de plaquetas. (Sysmex, 2019)

- Método Sulfato Lauril de Sodio (SLS) libre de cianuro.

El método recomendado por el International Committee for Standardization in Haematology (ICSH) para medir la concentración de hemoglobina es el método de la cianometahemoglobina.

El método de detección de hemoglobina SLS utiliza laurilsulfato sódico (SLS) sin cianuro.

El mecanismo del reactivo es hemolizar los hematíes y los leucocitos de la muestra. La reacción química comienza alterando la globina y, a continuación, oxidando el grupo hemo. Ahora los grupos hidrófilos del SLS pueden fijarse al grupo hemo y formar un complejo estable cromado (SLS-Hb), que se analiza con un método fotométrico. Un LED emite luz monocromática que, al pasar por la mezcla, los complejos SLS-Hb absorben la luz. La emisión se mide con un fotosensor, y es inversamente proporcional a la concentración de hemoglobina de la muestra. (Sysmex, 2019)

## **2.1.5 Resultados con interferencia en analizadores hematológicos automatizados**

### **2.1.5.1 Interferentes en la medición de la hemoglobina**

- Inmunoglobulinas elevadas.

Se reportó la alteración de distintos análisis de laboratorio por inmunoglobulinas elevadas en pacientes. Además, existió una sobreestimación de la hemoglobina en un caso de Gammapatía Monoclonal IgA- $\kappa$  (Roberts, Fontenot, & Lehman, 2000). Se ha informado que interfieren con

una serie de pruebas de laboratorio clínico. Se observó una falsa elevación de la medición de la hemoglobina mediante métodos automatizados para varios pacientes con macroglobulinemia de Waldenström e IgM monoclonal, o con mieloma múltiple e IgA o IgG monoclonal. El recuento de glóbulos rojos y el VCM no se ven afectados en esta situación, pero, como se sobreestima la hemoglobina, el MCHC generalmente excede los 36 g / dl.

- Presencia de Crioglobulinas.

Se proponen varios mecanismos para explicar estos hallazgos anormales. En algunos casos, los valores de hemoglobina supuestamente altos se relacionaron con un mecanismo similar al descrito anteriormente para las inmunoglobulinas (Cornbleet, 1983)

- Hemólisis.

La Hemoglobina libre dentro del plasma se mide junto con la de los RBC, pero su cantidad varía de 10 a 40 mg/l en condiciones normales y no afecta la medición de la hemoglobina total. Sin embargo, en situaciones relacionadas con hemólisis intravascular mayor, que incluyen productos químicos, hemólisis mecánica asociada con válvulas cardíacas y anemias hemolíticas asociadas con transfusión de sangre, la hemoglobina en plasma libre puede estar lo suficientemente elevada como para afectar la medición de la hemoglobina total. La CHCM puede ser > 36 g/dl. El hematocrito centrifugado muestra un matiz de plasma rosado o rojo, es decir, si la hemoglobina libre en plasma es > 200 mg/l, y es, en algunos casos, el único parámetro confiable de RBC. Algunos analizadores hematológicos de haz láser determinan directamente la hemoglobina dentro de cada RBC, la Concentración de Hemoglobina Corpuscular media (CHCM), que permite calcular el valor de hemoglobina preciso. Un breve lapso de tiempo entre la punción venosa y el análisis es de importancia crucial porque la hemólisis puede continuar in vitro, lo que lleva a una disminución espuria del conteo de glóbulos rojos y la hemoglobina total con un aumento espurio de la hemoglobina plasmática libre. (Zandecki et al., 2007, p. 30)

### **2.1.5.2 Interferencias en el Recuentos de glóbulos rojos y parámetros de glóbulos rojos**

- Aglutininas frías.

La aglutininas frías aglutinan los glóbulos rojos cuando están a una temperatura por debajo de los 37°C por ello es un factor pre-analítico y analítico notorio que conduce a resultados falsos de recuento de células sanguíneas en analizadores automatizados que tiene como consecuencia un incorrecta disminución del recuento de glóbulos rojos ya que el umbral superior que puede considerar partículas como RBC en el (los) canal (es) de RBC se encuentra entre 200 y 300 fl. RBC o pequeños grupos de RBC (dos o tres RBC), RBC o pequeños grupos de RBC son completamente ignorados por el analizador hematológico. La posible solución con la tecnología Sysmex es el uso del canal óptico que incuba las muestras a 41 ° C y, de este modo, separa al RBC de aglutininas frías. Para evaluar la validez de esta tecnología. (Berda-Haddad et al., 2016, p. 34)

### **2.1.5.3 Interferencias en la Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media**

- Valor de CHCM incrementado por interferencia.

CHCM > 365 g/l es poco frecuente en la mayoría de analizadores de tipo impedancia, mientras que puede observarse ocasionalmente en un analizador hematológico de haz láser, en varios trastornos constitutivos en los que los RBC están "deshidratados", incluida la esferocitosis hereditaria, diversos trastornos de hemoglobina. Algunas afecciones adquiridas imitan a las constitutivas, a saber, las anemias hemolíticas inmunitarias adquiridas causadas por aglutininas calientes, en las que los eritrocitos recubiertos con anticuerpos calientes pueden transformarse gradualmente en esferas in vivo o in vitro después de la punción venosa, lo que lleva a células más o menos deshidratadas y esféricas. Muchas situaciones correspondientes a valores de hemoglobina anormalmente altos y / o RBC anormalmente bajos, y / o VCM falsamente bajo, también conducen a un aumento de CHCM. Aunque se desconoce el mecanismo, algunos

fármacos inmunosupresores pueden aumentar ligeramente el CHCM, generalmente no por encima de 37.5 g/dl (Cornbleet, 1983, p. 510).

### 2.1.6 Árbol de decisiones

Berda-Haddad et.al (2016) propusieron un árbol de decisión definido en caso de CHCM elevado  $> 365$  g / L. Se requerirán diferentes acciones como resultado de los hallazgos: delta RBC% y / o delta HGB% y / o plasma aspecto y/o puntuación de RBC. RBC corresponde a RBC medido por el método de impedancia, y HGB corresponde a HGB medido por el proceso de fotometría. RBC-O para RBC medido por canal óptico, HGB-O para HGB medido por canal óptico, R-MFV para el volumen más frecuente de glóbulos rojos, definido como el pico de la distribución de la curva de RBC (Figura 1).

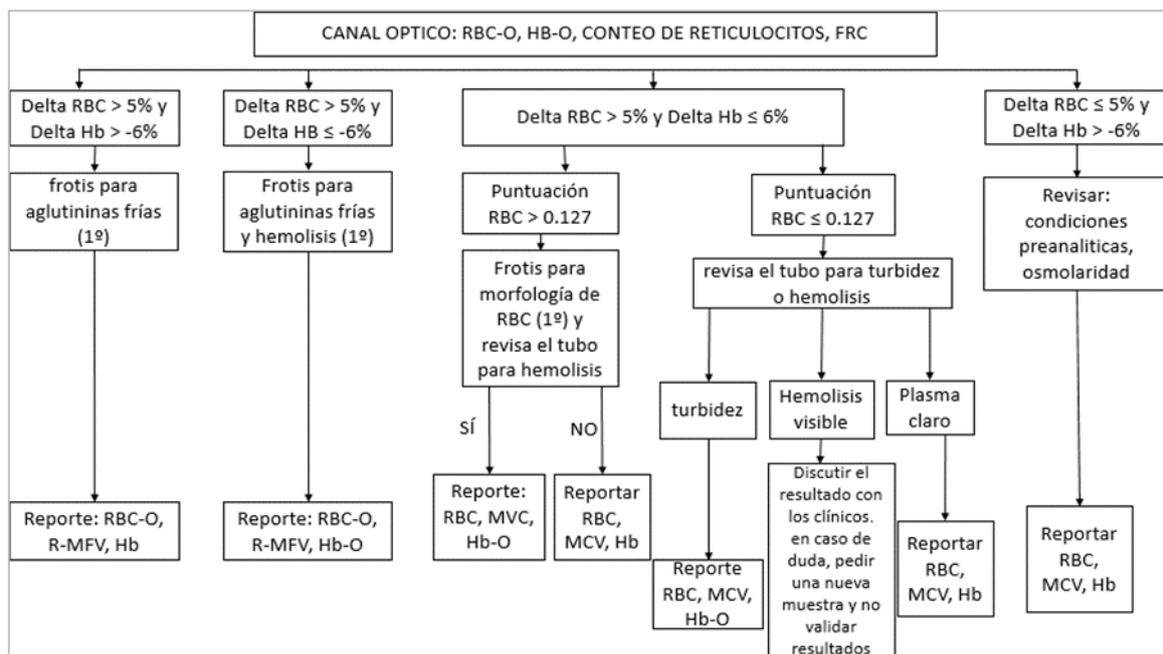


Figura 1. Árbol de decisión de CHCM  $> 365$  g/l. Berda-Haddad, y otros, (2016) Increased Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration: artefact or pathological condition? *Internacional Journal of Laboratory Hematology*. Recuperado de doi:10.1111/ijlh.12565

### **III. Método**

#### **3.1 Tipo de investigación**

##### **3.1.1 Tipo de investigación**

Para los propósitos del estudio y de acuerdo con la naturaleza de problema, se empleó el tipo de investigación cuantitativa. Según Niño (2011) nos menciona que: “La investigación cuantitativa tiene que ver con la “cantidad” y, por tanto, su medio principal es la medición y el cálculo. En general, busca medir variables con referencia a magnitudes.” (p. 436)

Según Niño (2011) la investigación descriptiva tiene como propósito es describir la realidad objeto de estudio, un aspecto de ella, sus partes, sus clases, sus categorías o las relaciones que se pueden establecer entre varios objetos, con el fin de esclarecer una verdad comprobar una hipótesis. (p. 102)

Desde un enfoque cuantitativo la investigación retrospectiva es considerada como no experimental, bajo el diseño de investigación transversal o transeccional porque se limita a evaluar una situación o fenómeno que se dieron en un punto del tiempo y determina o ubica cuál es la relación de un conjunto de variables en un momento. (Hernández, 2010, p. 151)

Es así que la investigación fue de tipo retrospectiva, debido a que efectuó la revisión de los resultados almacenadas en la base de datos del analizados Sysmex XN 1000 que consignen el parámetro CHCM > 365 g/l. Y descriptiva porque se trabajó con los datos que se dieron en la realidad.

##### **3.1.2 Diseño de investigación**

Para el diseño de estudio se utilizó un diseño no experimental, transversal

Gómez (2009) señala sobre la investigación no experimental: “Podría definirse como la investigación que se realiza sin manipular deliberadamente variables. Lo que hacemos es observar fenómenos tal y como se dan en su contexto natural, para después analizarlos.” (p.450)

Asimismo, consideramos que la investigación fue transversal tomando en cuenta lo descrito por Gómez (2009): “los diseños de investigación transversales recolectan datos en un solo momento, en un tiempo único. Su propósito es describir variables (o describir comunidades eventos, fenómenos o contextos) y analizar su incidencia o interrelación en un momento dado” (p. 300)

La presente investigación tuvo el tipo de diseño mencionado ya que se observó el fenómeno tal y como es en su contexto natural, durante 7 meses consecutivos del año 2019 con una sola observación en el tiempo para la medición de sus características en forma independiente, arrojando resultados estadísticos.

A su vez se utilizó un grupo (grupo 1) para definir la capacidad del analizador hematológico de proporcionar resultados idénticos para un perfil de RBC utilizando métodos ópticos y de impedancia, con un solo criterio selectivo con un CHCM inferior a 366 g / L.

## **3.2 Ámbito Temporal y Espacial**

### **3.2.1 Ámbito temporal**

Para el propósito de estudio se utilizó los datos de los 7 meses consecutivos del año 2019.

### **3.2.2 Ámbito espacial**

Los datos fueron extraídos del analizador hematológico del servicio de Hematología general del departamento de Patología clínica del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas, Lima-Perú

## **3.3 Variables**

Según Reguant y Martínez-Olmo (2014) lo define de la siguiente manera:

“La operacionalización de conceptos o variables es un proceso lógico de desagregación de los elementos más abstractos –los conceptos teóricos–, hasta llegar al nivel más concreto, los hechos producidos en la realidad y que representan indicios del concepto, pero que podemos observar, recoger, valorar, es decir, sus indicadores.” (p. 3)

**Tabla N°1 Operacionalización de variables**

VARIABLES	CONCEPTO	INDICADOR	UNIDADES y CATEGORIA
Recuento óptico de glóbulos rojos	Hace un recuento de hematíes utilizando la citometría de flujo de fluorescencia después de la estabilización y el calentamiento a 41 ° C en la cámara de incubación. RBC-O es un parámetro medido, que corresponde al recuento total de eritrocitos, incluido el recuento de reticulocitos.	Parámetro del recuento óptico de glóbulos rojos (RBC-O)	Unidades: 10 <sup>6</sup> unidades/l Categoría: Cuantitativa
Medición óptica de hemoglobina	Hb-O es un parámetro calculado derivado principalmente del contenido de hemoglobina del conteo de RBC-O y RBC (RBC-He)	Parámetro óptico en la medición de hemoglobina (Hb-O)	Unidades: Gramos/litro (g/l) Categoría: Cuantitativa
Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM)	Representa la cantidad de hemoglobina relativa al tamaño de la célula	CHCM= Hb g/l x100 Hto	Unidades: g/l Categoría: Cuantitativa

### 3.4 Población y Muestra

#### 3.4.1 Población

Según, Lerma (2009): “La población es el conjunto de todos los elementos de la misma especie que presentan una característica determinada o que corresponden a una misma definición y a cuyos elementos se les estudiarán sus características y relaciones.” (p. 72)

La población para este estudio está constituida por análisis de pacientes del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas que se realizaron exámenes hematológicos que incluye hemograma completo durante el mes de abril a octubre del año 2019.

### 3.4.2 Muestra

Leerma (2009) define la muestra como: "... un subconjunto de la población. A partir de los datos de las variables obtenidos de ella (estadísticos), se calculan los valores estimados de esas mismas variables para la población." (p. 73)

Del conjunto de análisis de pacientes del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas que se realizaron exámenes hematológicos que incluye hemograma completo, se seleccionó aquellos resultados, que tuvieron un el CHCM sobrevalorado ( $\text{CHCM} > 365 \text{ g/l}$ ) provenientes del área de hospitalización, urgencias y consulta externa, durante los meses de abril y octubre del año 2019, el cual equivale a 48 pacientes desconocidos con  $\text{CHCM} > 365 \text{ g/l}$  con aglutininas frías. Esta selección se efectuó mediante la filtración de resultados, que consignen lo mencionado anteriormente.

El Muestreo fue desarrollado de tipo no probabilístico, tomando en cuenta lo que señala Hernández et al. (2010): "En las muestras no probabilísticas, la elección de los elementos no depende de la probabilidad, sino de causas relacionadas con las características de la investigación o de quien hace la muestra. Aquí el procedimiento no es mecánico ni con base en fórmulas de probabilidad, sino que depende del proceso de toma de decisiones de investigador o de un grupo de investigadores y, desde luego, las muestras seleccionadas obedecen a otros criterios de investigación" (p. 176) y muestreo por conveniencia según lo descrito por Nogales (2004): " el muestreo por conveniencia consiste en seleccionar las unidades muestrales más convenientes para el estudio o en permitir que la participación sea totalmente voluntario". (p. 149)

A pesar de tener muchos hemogramas en el laboratorio a desarrollarse la investigación, los valores con altos CHCM fueron utilizados en su totalidad por un tiempo de 7 meses consecutivos. Los criterios de inclusión y exclusión que se utilizaron son:

- Criterios de inclusión

Pacientes de urgencia, hospitalización y consultorio del INEN

Grupo 1: Resultados de CHCM < 366 g/l sin presencia de aglutininas frías Grupo 2: Resultados de CHCM > 365 g/l con presencia de aglutininas frías.

### **3.5 Instrumentos**

Computadora actualizada con el sistema informático

Base de datos de analizador Sysmex XN 1000 del servicio de hematología general del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN) durante los meses 7 meses consecutivos del año 2019.

### **3.6 Procedimientos**

#### **3.6.1 Recolección de datos y descripción de los instrumentos**

Para la recolección de datos se solicitaron permisos previos a las autoridades correspondientes (Anexo 9.2)

Se efectuó la revisión de los resultados en la base de datos del analizador hematológico Sysmex XN 1000 del servicio de hematología general del INEN en el tiempo establecido, para seleccionar los resultados que consignen resultados de CHCM > 365 g/l, tanto en área de emergencias, hospitalización como consultorio externo. A su vez, se identificó los indicadores y características del estudio.

La información de los resultados fue descargada en una base de datos para facilitar la tabulación de estos.

Todos los resultados del estudio fueron pacientes del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. En primera instancia, las muestras se recolectaron en tubos K2-EDTA de Becton Dickinson™ (Franklin Lakes, NJ, EE. UU.) Y se analizaron de forma rutinaria en el analizador hematológico Sysmex XN-1000 durante abril – octubre del 2019.

### 3.7 Análisis de Datos

En primera instancia, la plantilla de datos se transfirió a Excel Microsoft. Luego los análisis fueron evaluados utilizando el software estadístico MedCalc 19.2.3.

Para definir la capacidad del analizador hematológico para proporcionar resultados idénticos para un perfil de RBC utilizando impedancia y métodos ópticos, se realizó una comparación en un grupo definido como “Grupo 1” incluyendo a pacientes con los siguientes valores: HGB que oscile entre 31 g/L a 201 g/L y RBC entre  $1.04 \times 10^{12}/L$  a  $6.7 \times 10^{12}/L$ , con solo un criterio selectivo de CHCM inferior a 366 g/L.

Después se clasifico los resultados que consignaron un valor de CHCM  $> 365$  g/L con presencia de aglutininas frías definido como “Grupo 2”

Los resultados que consignaron un valor de CHCM  $> 365$  g/L tienen por defecto medición por ambas tecnologías (impedancia y óptica) por lo tanto ambas mediciones fueron registradas para el estudio.

La agrupación de muestras con presencia de aglutininas frías se hizo a través del analizador hematológico que arroja una alarma de turbidez que se interpreta como presencia de crioaglutininas y revisión del sistema informático de laboratorio LABCORE.

La verificación de la distribución normal de los parámetros evaluados en ambos grupos (1 y 2) se realizó con la prueba de Shapiro-Wilk. Para hallar el “valor p” en muestras pareadas (Grupo 1) se utilizó la prueba de wilconxin y para 3 parámetros de estudio (Grupo 2) se utilizó el test de kruskall - wallis

La fiabilidad y correlación de las mediciones entre los dos métodos fueron evaluados utilizando el coeficiente de correlación de Pearson. El coeficiente de correlación en la evaluación de dos variables fluctúa entre 1 y -1, se considera una correlación perfecta si el valor “r” es igual a 1. Cuando no existe correlación lineal su valor es 0. Existe una correlación positiva (negativa) muy alta si el valor R oscila entre  $\pm 0.90$  a  $\pm 1$  mientras, existe

una correlación positiva (negativa) baja si el valor R oscila entre  $\pm 0.30$  a  $\pm 0.50$  y nula si el R oscila entre 0 a  $\pm 0.30$ .

El gráfico de dispersión de Bland-Altman se aplicó para describir la concordancia entre las mediciones cuantitativas el cual se determinó utilizando la media y la desviación estándar de las diferencias entre las dos mediciones y se comparó con el sesgo permitido por la variabilidad biológica (VB), según las especificaciones para el sesgo derivadas de la variación biológica intra e interindividual informado por ricos et al (2014) para finalmente establecer si el método óptico es aceptable o no.

El análisis de regresión de tipo no paramétrica de Passing-Bablok se utilizó para calcular la diferencia sistemática (constante y proporcional) entre dos métodos. La presencia de un error sistemático constante indica que un método mide consistentemente más alto o bajo en comparación con el otro método. El error sistemático proporcional significa que las diferencias entre los 2 métodos están relacionadas proporcionalmente con el nivel de mediciones.

El intervalo de confianza del 95% (CI 95%) para el intercepto incluye el valor cero (0) se puede concluir que no existe una diferencia significativa entre el valor obtenido y el valor cero, por ende, no existe diferencia constante entre dos métodos. Si el intervalo de confianza del 95% (CI 95%) para la pendiente incluye el valor uno (1), se puede concluir que no hay una diferencia significativa entre el valor de la pendiente obtenida y el valor uno, por ende, no hay diferencia proporcional.

En tal caso, podemos inferir que no hay una diferencia significativa entre los métodos, por lo que ambos se pueden usar indistintamente. (Passing y Bablok, 1983, p.3)

Las pruebas de hipótesis son test de significación estadística que cuantifican hasta qué punto la variabilidad de la muestra puede ser responsable de los resultados de un estudio en particular.

La  $H_0$  (hipótesis nula) representa la afirmación de que no hay diferencia estadísticamente

significativa entre las dos variables estudiadas y la  $H_a$  (hipótesis alternativa) afirma que hay algún grado de diferencia significativa entre las dos variables. Cuando rechazamos la  $H_0$  (hipótesis nula) y aceptamos la  $H_a$  (hipótesis alternativa) como probablemente cierta afirmando que hay una asociación, o que hay diferencia. Del mismo modo si la  $p > 0.05$  decimos que el azar no puede ser excluido como explicación de dicho hallazgo y no rechazamos la  $H_0$  (hipótesis nula) que afirma que ambas variables no están asociadas o correlacionadas.

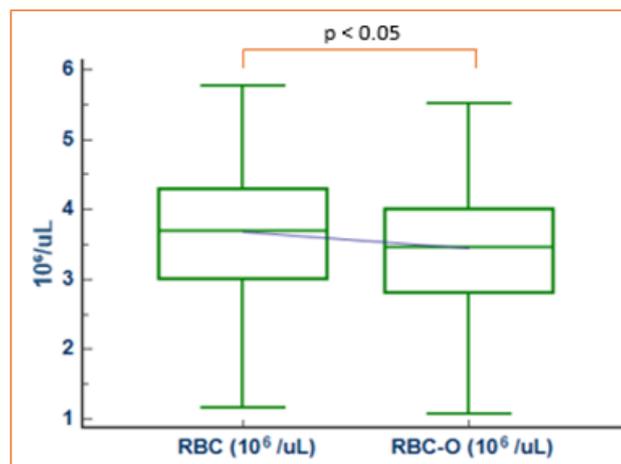
## V. Resultados

### 4.1 Análisis descriptivo de los parámetros obtenidos por el método de impedancia y óptico del GRUPO 1

#### 4.1.1 Análisis descriptivo de RBC vs RBC-O con CHCM < 366g/L

En la Figura 1 se muestra la gráfica de caja y bigotes para la interpretación del análisis descriptivo para RBC (impedancia) con valores de CHCM < 366 g/L obtenidos a partir de 500 muestras de pacientes donde el valor medio obtenido es de  $3.68 \times 10^6/\mu\text{L}$  donde el percentil 25th y 75th presenta un valor de 3.02 y  $4.29 \times 10^6/\mu\text{L}$  respectivamente y una desviación estándar de 0.86. Para RBC-O (óptica) con los mismos criterios antes descritos, el valor medio obtenido es 3.46 ( $10^6/\mu\text{L}$ ) donde el percentil 25th y 75th presenta un valor de 2.82 y 4.01 ( $10^6/\mu\text{L}$ ) respectivamente y una desviación estándar de 0.79. En efecto se muestra que los valores de comparación entre RBC vs RBC-O con CHCM < 366 presentan una distribución menor de los valores de RBC-O con respecto de RBC-impedancia.

**Figura N°1:** Análisis descriptivo de RBC vs RBC-O con CHCM < 366g/L



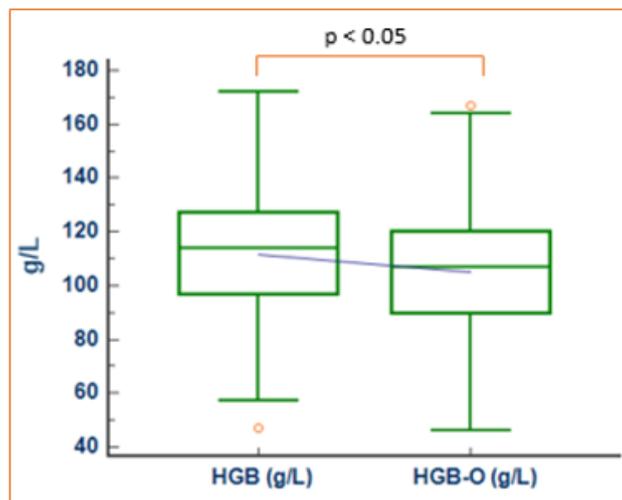
Fuente: Medcalc 19.2.3 (Propia)

#### 4.1.2 Análisis descriptivo de HGB y HB-O con CHCM < 366g/L

En la Figura 2 se muestra la gráfica de caja y bigotes para la interpretación del análisis descriptivo para HGB (fotometría) con valores de CHCM < 366 obtenidos a partir de 500

muestras de pacientes donde el valor medio obtenido es de 111.6 g/L donde el percentil 25th y 75th presenta un valor de 97 y 127 g/l respectivamente y una desviación estándar de 24.0. Para HGB-O (óptica) con los mismos criterios antes descritos, el valor medio obtenido es 105.1 g/L donde el percentil 25th y 75th presenta un valor de 90 y 120 g/L respectivamente y una desviación estándar de 23.4. En efecto se muestra que los valores de comparación entre HGB vs HGB-O con CHCM < 366 presentan una distribución menor de los valores de HGB-O (óptica) con respecto de HGB (fotometría).

**Figura N°2:** Análisis descriptivo de HGB vs HGB-O con CHCM < 366g/L



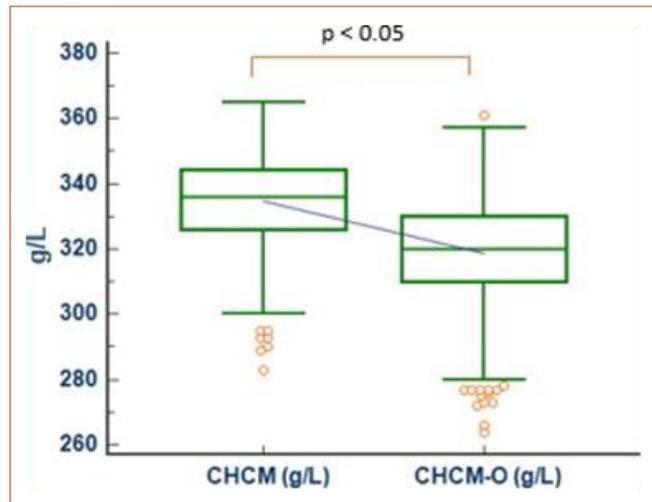
Fuente: Medcalc 19.2.3 (Propia)

#### 4.1.3 Análisis descriptivo de CHCM y CHCM-O con CHCM < 366g/L

En la Figura 3 se muestra la gráfica de caja y bigotes para la interpretación del análisis descriptivo para CHCM (impedancia) con valores de CHCM < 366 obtenidos a partir de 500 muestras de pacientes donde el valor medio obtenido es de 334.8 g/L donde el percentil 25th y 75th presenta un valor de 326 y 344 g/l respectivamente y una desviación estándar de 13.8. Para CHCM-O (óptica) con los mismos criterios antes descritos, el valor medio obtenido es 318.7 g/L donde el percentil 25th y 75th presenta un valor de 310 y 330 g/L respectivamente y una desviación estándar de 16.4. En efecto se muestra que los valores de comparación entre

CHCM vs CHCM-O con CHCM < 366g/L presentan una distribución menor de los valores de CHCM-O (óptica) con respecto de CHCM (impedancia).

**Figura N°3:** Análisis descriptivo de HGB vs HGB-O con CHCM < 366g/L



Fuente: Medcalc 19.2.3 (Propia)

En la tabla N°4 se muestra los parámetros comparativos de un total de 500 muestras de pacientes donde se muestran los valores de RBC, HGB y CHCM medidos a través de impedancia y el canal óptico basados en su valor mínimo y máximo, desviación estándar y a la vez la media a un 95% de confiabilidad.

**Tabla N°2:** Grupo 1. Comparación entre canales (Impedancia-óptico) a T° ambiente

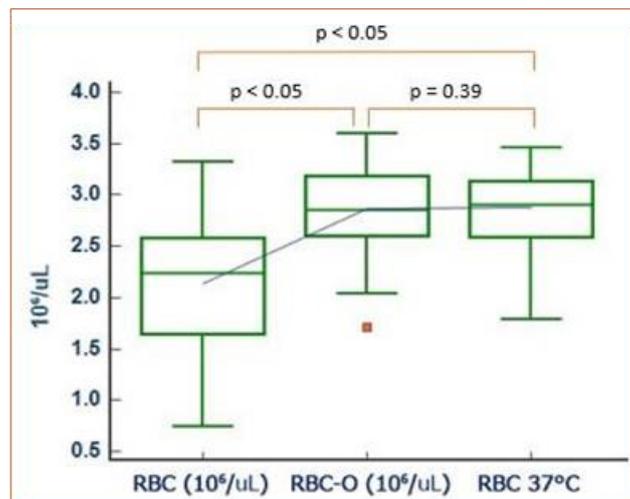
Parámetros	Valor mínimo	Media (95% CI)	Valor máximo	Desviación estándar
RBC (10 <sup>6</sup> /uL)	1.17	3.67 (3.60-3.75)	5.76	0.86
RBC-O(10 <sup>6</sup> /uL)	1.07	3.45 (3.38-3.52)	5.52	0.79
HGB (g/L)	47	111.6 (109.5-113.8)	172	24.0
HGB-O (g/L)	46	105.1 (103.1-107.2)	167	23.4
CHCM (g/L)	283	334.8 (333.5-335.9)	365	13.8
CHCM-O (g/L)	264	318.7 (317.2-320.2)	361	16.4

#### 4.2. Análisis descriptivo de los parámetros obtenidos por el método de impedancia, óptico y precalentamiento a 37°C del GRUPO 2

##### 4.2.1 Análisis descriptivo de RBC vs RBC-O vs RBC a 37° con CHCM > 365g/L

En la Figura 4 se muestra la gráfica de caja y bigotes para la interpretación del análisis descriptivo del parámetro RBC en 48 muestras con valores de CHCM > 365 g/L que presentan crioaglutininas. Para RBC (impedancia) el valor medio obtenido es de  $2.13 \times 10^6/\text{uL}$  donde el percentil 25th y 75th presenta un valor de 1.64 y  $2.57 \times 10^6/\text{uL}$  respectivamente 0.62. Para RBC-O (óptica) con los mismos criterios antes descritos, el valor medio obtenido es  $2.86 \times 10^6/\text{uL}$  donde el percentil 25th y 75th presenta un valor de 2.60 y  $3.18 \times 10^6/\text{uL}$  respectivamente y una desviación estándar de 0.39. El parámetro RBC 37°C (post incubación por impedancia), el valor medio obtenido es  $2.87 \times 10^6/\text{uL}$  donde el percentil 25th y 75th presenta un valor de 2.59 y  $3.13 \times 10^6/\text{uL}$  respectivamente y una desviación estándar de 0.37. En efecto se muestra que los valores de comparación entre RBC vs RBC-O y RBC 37°C con CHCM >365 presentan una distribución menor de los valores de RBC-O y RBC 37°C.

**Figura N°4:** *Análisis descriptivo de RBC vs RBC-O y RBC 37°C con CHCM >365g/L*



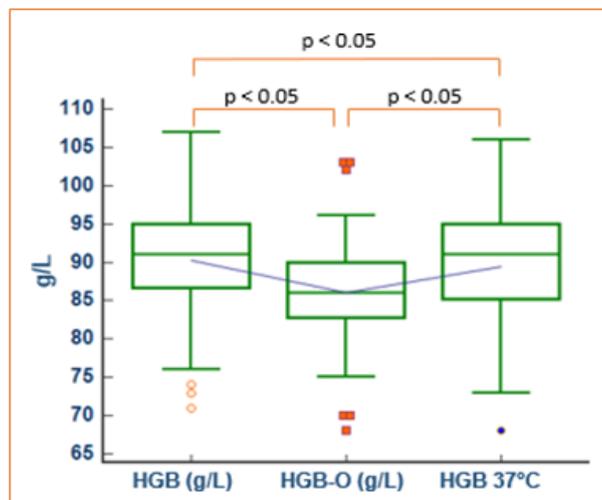
Fuente: Medcalc 19.2.3 (Propia)

#### 4.2.2 Análisis descriptivo de HGB vs HGB-O vs HGB a 37° con CHCM > 365g/L

En la Figura 5 se muestra la gráfica de caja y bigotes para la interpretación del análisis descriptivo para el parámetro HGB en 48 muestras con valores de CHCM > 365 g/L que presentan crioaglutininas. Para HGB (fotometría) el valor medio obtenido es de 90.2 g/L donde el percentil 25th y 75th presenta un valor de 86.8 y 95.0 g/L respectivamente y una desviación

estándar de 8.24. Para HGB-O (óptica) con los mismos criterios antes descritos, el valor medio obtenido es 86.0 g/L donde el percentil 25th y 75th presenta un valor de 82.7 y 90.0 g/L respectivamente y una desviación estándar de 7.68. El parámetro HGB 37°C (post incubación por fotometría), el valor medio obtenido es 89.4 g/L donde el percentil 25th y 75th presenta un valor de 85.2 y 95.0 g/L respectivamente y una desviación estándar de 8.40. En efecto se muestra que los valores de comparación entre HGB vs HGB-O y HGB 37°C con CHCM >365 presentan una distribución menor de los valores de HGB-O y HGB 37°C.

**Figura N°5:** *Análisis descriptivo de HGB vs HGB-O y HGB 37°C con CHCM >365g/L*



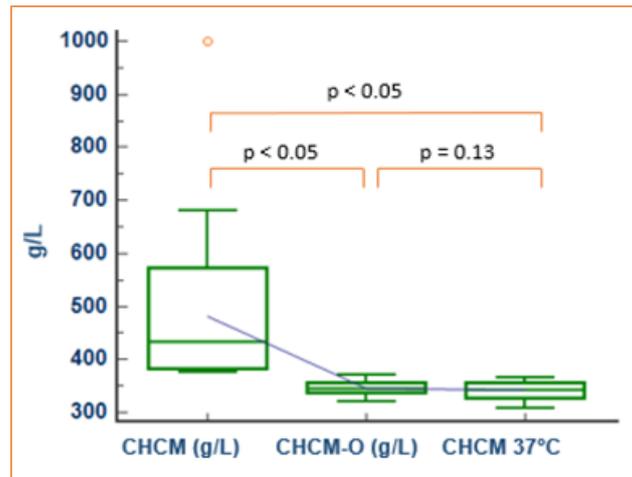
Fuente: Medcalc 19.2.3 (Propia)

#### 4.2.3 Análisis descriptivo de CHCM vs CHCM-O vs CHCM a 37° con CHCM > 365g/L

En la Figura 5 se muestra la gráfica de caja y bigotes para la interpretación del análisis descriptivo para el parámetro CHCM en 48 muestras con valores de CHCM > 365 g/L que presentan crioaglutininas. Para CHCM (calculado a partir de le método de impedancia) el valor medio obtenido es de 480.9 g/L donde el percentil 25th y 75th presenta un valor de 382.5 y 573.0 g/L respectivamente y una desviación estándar de 121.4. Para CHCM-O (calculado a partir del método óptico) con los mismos criterios antes descritos, el valor medio obtenido es 346.1 g/L donde el percentil 25th y 75th presenta un valor de 337.5 y 356.5 g/L respectivamente y una desviación estándar de 12. El parámetro CHCM 37°C (post incubación por impedancia),

el valor medio obtenido es 341.8 g/L donde el percentil 25th y 75th presenta un valor de 328.5 y 356.5 g/L respectivamente y una desviación estándar de 16.3. En efecto se muestra que los valores de comparación entre CHCM vs CHCM-O y CHCM 37°C con CHCM >365g/L presentan una distribución menor de los valores de CHCM-O y CHCM 37°C.

**Figura N°6:** Análisis descriptivo de CHCM vs CHCM-O y CHCM 37°C con CHCM < 366g/L



Fuente: Medcalc 19.2.3 (Propia)

**Tabla N°3:** Comparación entre el canal de impedancia a T° de ambiente y después de calentar a 37 ° C con los obtenidos en el canal óptico

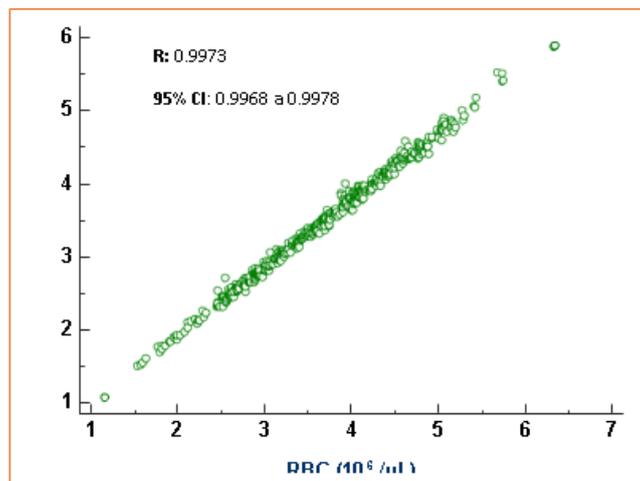
	Valor mínimo	Media (95% CI)	Máximo valor	Desviación estándar
RBC (10 <sup>6</sup> /uL)	0.74	2.13 (1.95 - 2.31)	3.32	0.62
RBC-O (10 <sup>6</sup> /uL)	1.71	2.86 (2.75 - 2.97)	3.6	0.39
RBC 37°C (10 <sup>6</sup> /uL)	1.79	2.87 (2.76-2.98)	3.46	0.37
HGB (g/L)	71	90.0 (87.7- 92.6)	107	8.24
HGB-O (g/L)	68	86.0 (83.7 – 88.3)	103	7.68
HGB 37°C (g/L)	68	89.4 (86.9 - 91.9)	106	8.40
CHCM (g/L)	376	480.9 (445.6-516.2)	1000	121.4
CHCM-O (g/L)	320	346.1 (342.6-349.6)	371	12.0
CHCM 37°C (g/L)	308	341.8 (337.1 -346.5)	365	16.3

### 4.3 Análisis Correlacional

#### 4.3.1 Resultado que responde al objetivo correlación entre el parámetro de RBC por impedancia vs el RBC óptico:

El objetivo inicial de nuestra investigación fue determinar la correlación entre el parámetro RBC impedancia vs óptico el cual se observa en la figura N° 1 donde se muestra el coeficiente de correlación de Pearson para los parámetros RBC vs. RBC - O. La comparación se realizó mediante la inclusión de 500 pacientes adultos no seleccionados en el rango completo de valores clínicos (HGB desde 31 g / L hasta 201 g / L y RBC desde  $1.04 \times 10^{12} / L$  hasta  $6.70 \times 10^{12} / L$ ), con el solo criterio selectivo de un valor de CHCM inferior a 366 g/L. Se encontró un R: 0.9973 con un intervalo de confianza de 0.9968– 0.9978 a un valor de  $p < 0.0001$ , que indica una excelente correlación entre la impedancia y los métodos ópticos para el parámetro RBC.

**Figura N°7:** Correlación entre el Método de impedancia y el Método óptico del parámetro RBC con CHCM <366 g/L



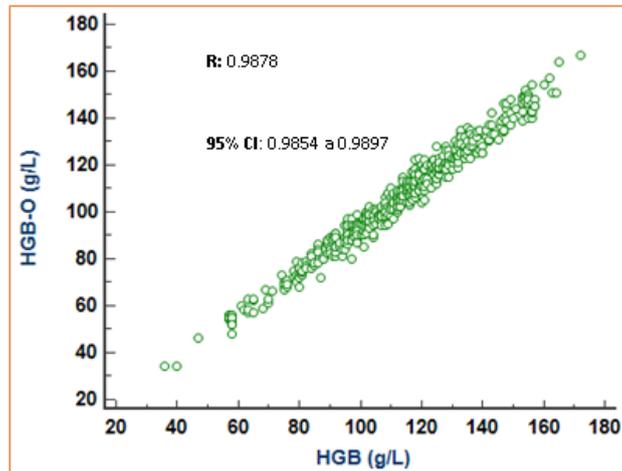
Fuente: Medcalc 19.2.3 (Propia)

#### **4.3.2 Resultado que responde al objetivo correlación entre el parámetro de HGB por fotometría vs el HB-óptica:**

El objetivo fue determinar la correlación entre el parámetro HGB por fotometría vs HGB óptica el cual se observa en la figura N°2 donde se muestra el coeficiente de correlación de Pearson para los parámetros HGB vs. HGB-O. La comparación se realizó mediante la inclusión de 500 pacientes adultos no seleccionados en el rango completo de valores clínicos (HGB desde 31 g/L hasta 201 g /L), con el solo criterio selectivo de un CHCM fue inferior a 366 g/L. Se

encontró un R: 0.9878 con un intervalo de confianza de 0.9854–0.9897 que indica una excelente correlación entre la fotometría y el método óptico para el parámetro HGB.

**Figura N°8:** Correlación entre la fotometría y el Método óptico del parámetro HGB con  $CHCM < 366\text{g/L}$

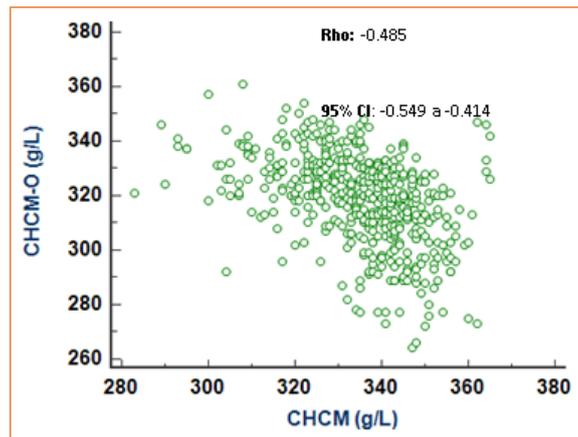


Fuente: Medcalc 19.2.3 (Propia)

#### 4.3.3 Resultado que responde al objetivo correlación entre el parámetro de CHCM vs el CHCM-O:

El CHCM es un parámetro calculado a partir de la hemoglobina (HGB) y hematocrito (Hto). A partir de allí se obtiene el parámetro de CHCM y CHCM-O. En tal sentido los parámetros son calculados. Para la comparación de los parámetros se realizó mediante la inclusión de 500 pacientes con una  $CHCM < 366\text{ g/L}$ . Se encontró un rango de coeficiente de correlación de Spearman (Rho) Rho: -0.3992 con un intervalo de confianza de -0.4704 a - 0.3228. En consecuencia, observamos que no existe una buena correlación.

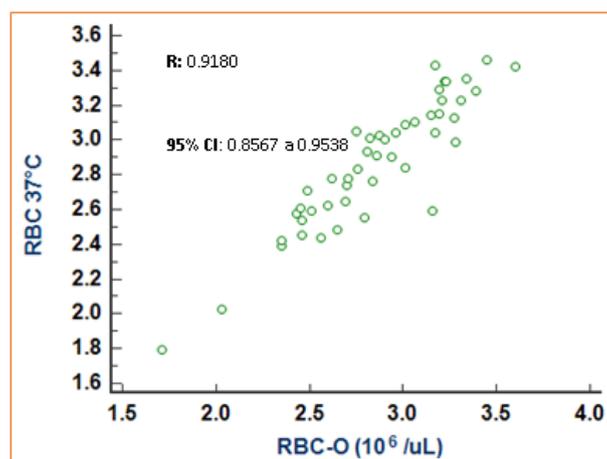
**Figura N°9:** Correlación entre el parámetro CHCM y CHCM óptico con  $CHCM < 366\text{g/L}$



**4.3.4 Resultado que responde al objetivo correlación entre el parámetro de RBC por impedancia (post incubación a 37°C) vs el RBC óptico:**

El RBC<sub>37°C</sub> corresponde a las muestras con sospecha de aglutininas frías que fueron incubados a 37°C y se repitió el análisis. La comparación se realizó mediante la inclusión de 48 pacientes con una CHCM > 365 g/L pertenecientes al grupo con sospecha de aglutininas frías (grupo “RBC aglutinación”). Se encontró un R: 0.9180 con un intervalo de confianza de 0.8567 a 0.9538 que indica una excelente correlación entre el método óptico y el método de impedancia post incubación a 37° C para el parámetro RBC.

**Figura N°10:** Correlación entre el parámetro RBC-O y RBC (post incubación 37°C) con CHCM > 365g/L

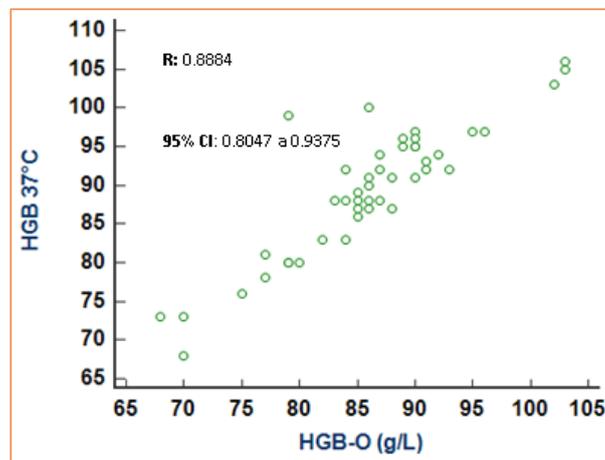


Fuente: Medcalc 19.2.3 (Propia)

**4.3.5 Resultado que responde al objetivo correlación entre el parámetro de HGB por impedancia (post incubación a 37°C) vs el HGB óptico:**

La HGB<sub>37°C</sub> corresponde a las muestras con sospecha de aglutininas frías que fueron incubados a 37°C y se repitió el análisis. La comparación se realizó mediante la inclusión de 48 pacientes con una CHCM > 365 g/L pertenecientes al grupo con sospecha de aglutininas frías (grupo “RBC aglutinación”). Se encontró un R: 0.9549 con un intervalo de confianza de 0.9205–0.9746 que indica una excelente correlación entre el método óptico y el método de fotometría post incubación a 37° C para el parámetro HGB.

**Figura N°11** Correlación entre el parámetro HGB-O y HGB (post incubación 37°C) con CHCM >365g/L

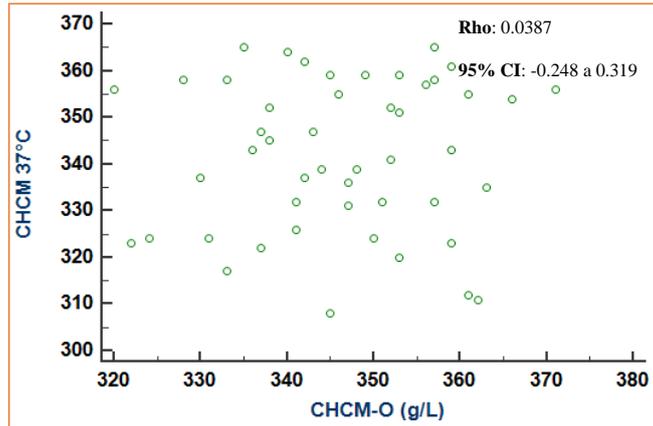


Fuente: Medcalc 19.2.3 (Propia)

#### 4.3.6 Resultado que responde al objetivo correlación entre el parámetro de CHCM por impedancia (post incubación a 37°C) vs el CHCM-O óptico:

La CHCM 37°C corresponde a las muestras con sospecha de aglutininas frías que fueron incubados a 37°C y se repitió el análisis. La comparación se realizó mediante la inclusión de 48 pacientes con una CHCM > 365 g/L pertenecientes al grupo con sospecha de aglutininas frías (grupo “RBC aglutinación”). Se encontró un rango de coeficiente de correlación de Spearman (Rho) Rho: 0.0387 con un intervalo de confianza de -0.248 a 0.319.

**Figura N°12:** Correlación entre el parámetro CHCM-O y CHCM (post incubación 37°C) con CHCM >365g/L



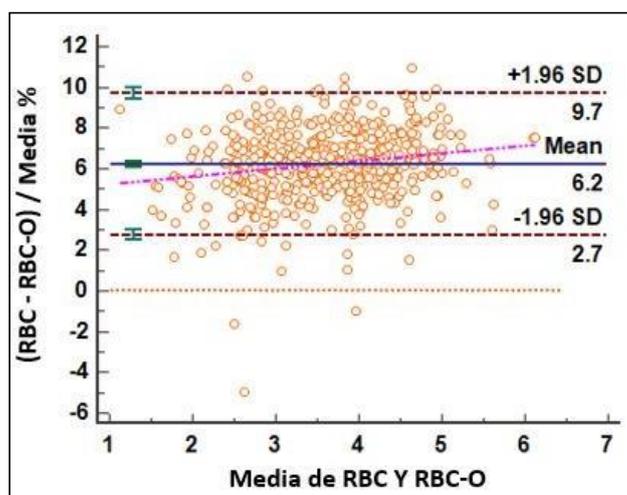
Fuente: Medcalc 19.2.3 (Propia)

#### 4.4 Análisis de concordancia entre métodos

##### 4.4.1 Grafica de Bland Altman entre el método de impedancia vs método óptico para el RBC del Grupo 1

El gráfico de Bland-Altman mostró un sesgo promedio  $\pm$  DE entre el RBC por impedancia y RBC óptico de  $6.22 \pm 1.77$ , y los límites de acuerdo fueron 6.06 a 6.37. Con respecto a nuestro conjunto de datos, esos dos métodos no se pueden usar indistintamente ya que se observó un valor por encima del límite aceptable  $\pm 1.7\%$ , según lo informado por Ricos et al (2014)

**Figura N°13.** Concordancia entre impedancia y método óptico para RBC del grupo 1 (Bland-Altman plot).

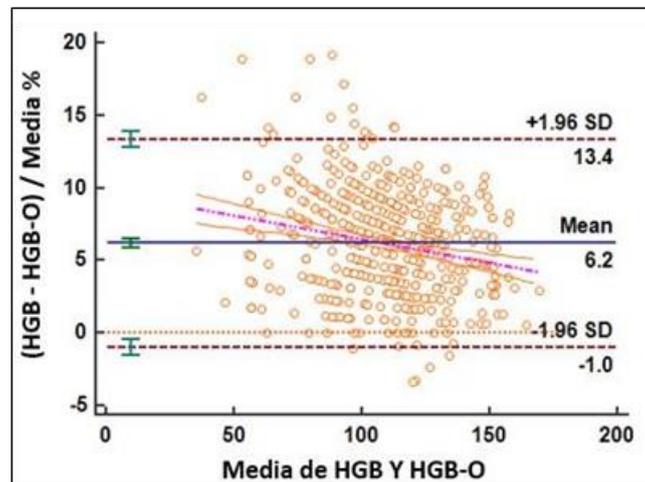


Fuente: Medcalc 19.2.3 (Propia)

#### 4.4.2 Grafica de Bland Altman entre el método de fotometría vs método óptico para la HGB del Grupo 1

El gráfico de Bland-Altman mostró un sesgo promedio  $\pm$  DE entre la HGB por fotometría y HGB óptica de  $6.19 \pm 3.66$ , y los límites de acuerdo fueron de 5.86 a 6.51. Con respecto a nuestro conjunto de datos, esos dos métodos no se pueden usar indistintamente ya que se observó un valor por encima del límite aceptable  $\pm 1.84\%$ , según lo informado por Ricos et al (2014).

**Figura N°14.** Concordancia entre fotometría y método óptico para HGB del grupo 1 (Bland-Altman plot).

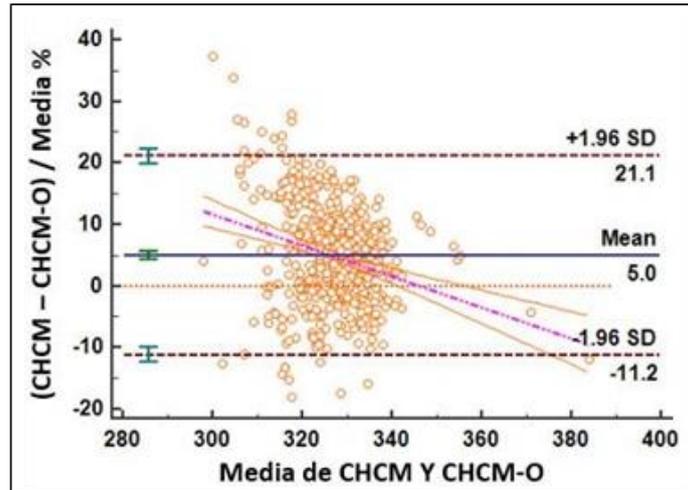


Fuente: Medcalc 19.2.3 (Propia)

#### 4.4.3 Grafica de Bland-Altman entre el método de impedancia vs método óptico para el CHCM del grupo 1

El gráfico de Bland-Altman mostró un sesgo promedio  $\pm$  DE entre la CHCM por impedancia y CHCM óptica de  $4.96 \pm 8.22\%$ , y los límites de acuerdo fueron de 4.24 a 5.68. Con respecto a nuestro conjunto de datos, esos dos métodos no se pueden usar indistintamente ya que se observó un valor por encima del límite aceptable  $\pm 0.4 \%$ , según lo informado por Ricos et al (2014)

**Figura N°15.** Concordancia entre impedancia y método óptico para CHCM del grupo 1 (Bland-Altman plot).

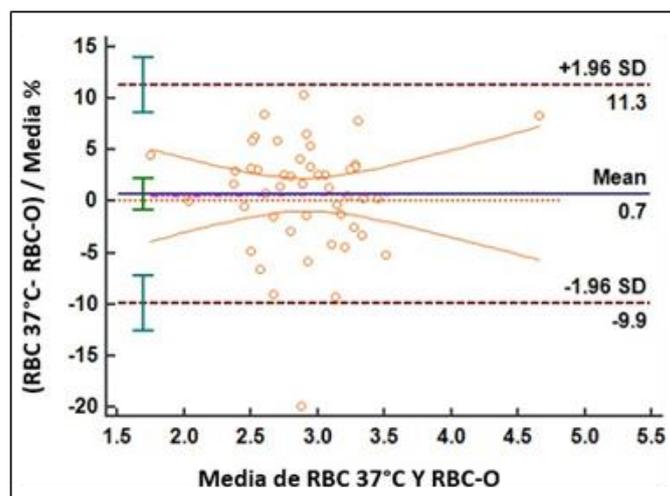


Fuente: Medcalc 19.2.3 (Propia)

#### 4.4.4 Grafica de Bland-Altman entre el método de impedancia post incubación a 37°C vs método óptico para el RBC

El gráfico de Bland-Altman mostró un sesgo promedio  $\pm$  DE entre el RBC por impedancia post incubación a 37°C y RBC óptico de  $0.68 \pm 5.41$ , y los límites de acuerdo fueron -0.88 a 2.25. Con respecto a nuestro conjunto de datos, esos dos métodos se pueden usar indistintamente ya que se observó un valor por debajo del límite aceptable  $\pm 1.7\%$ , según lo informado por Ricos et al (2014).

**Figura N°16.** Concordancia entre impedancia post incubación a 37°C y método óptico para RBC del grupo 2 (Bland-Altman plot).

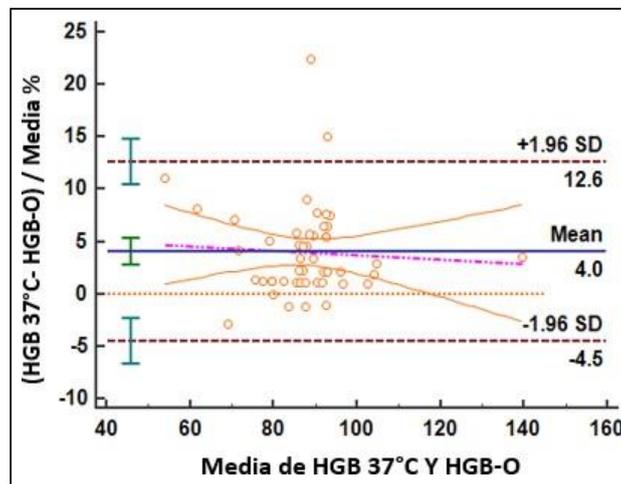


Fuente: Medcalc 19.2.3 (Propia)

#### 4.4.5 Grafica de Bland Altman entre el método de fotometría post incubación a 37°C vs método óptico para la HGB

El gráfico de Bland-Altman mostró un sesgo promedio  $\pm$  DE entre la HGB por fotometría post incubación a 37°C y HGB óptica de  $4.03 \pm 4.36$ , y los límites de acuerdo fueron de 2.76 a 5.29. Con respecto a nuestro conjunto de datos, esos dos métodos no se pueden usar indistintamente ya que se observó un valor por encima del límite aceptable  $\pm 1.84\%$ , según lo informado por Ricos et al (2014).

**Figura N°17.** Concordancia entre fotometría post incubación a 37°C y método óptico para HGB del grupo 2 (Bland-Altman plot).

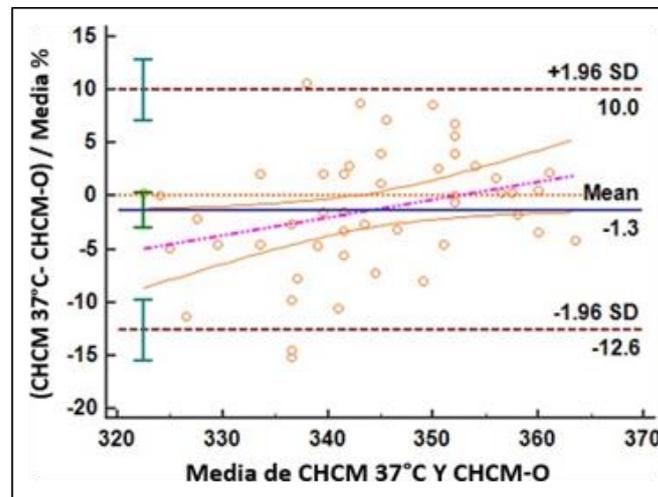


Fuente: Medcalc 19.2.3 (Propia)

#### 4.4.6 Grafica de Bland-Altman entre el método de impedancia post incubación a 37°C vs método óptico para el CHCM

El gráfico de Bland-Altman mostró un sesgo promedio  $\pm$  DE entre la CHCM por impedancia post incubación a 37°C y CHCM óptica de  $-1.31 \pm 5.75\%$ , y los límites de acuerdo fueron de 2.98 a 0.36. Con respecto a nuestro conjunto de datos, esos dos métodos no se pueden usar indistintamente ya que se observó un valor por encima del límite aceptable  $\pm 0.4 \%$ , según lo informado por Ricos et al (2014).

**Figura N°18.** Concordancia entre impedancia post incubación a 37°C y método óptico para CHCM del grupo 1 (Bland-Altman plot).



Fuente: Medcalc 19.2.3 (Propia)

**Tabla N°4:** Grupo 1. Bland-Altman Bias, regresión de Passing-Bablok y correlación de Pearson.

	BIAS DESEABLE	Bland Altman BIAS (95% CI)	Passing-Bablok Regresión			Correlación de Pearson
			Regresión Lineal	Pendiente (95% CI)	Intercepto R (95% CI)	95% CI
RBC (10 <sup>6</sup> /uL) vs RBC-O (10 <sup>6</sup> /uL)	± 1.7%	6.2 (6.06 a 6.37)	Y=0.0392+ 0.9283X	0.9283 (0.9228 a 0.9340)	0.0392 (0.0183 a 0.0588)	0.9973 (0.9968–0.9978)
HGB (g/L) vs HGB-O (g/L)	±1.84%	6.2 (5.87 a 6.51)	Y= - 4.1818+ 0.9773X	0.9773 (0.9615 a 1.0000)	-4.1818 (-7.000 a -2.4615)	0.9878 (0.9854-0.9897)
CHCM (g/L) vs CHCM-O (g/L)	± 0.4%	5.0 (4.24 a 5.68)	Y= - 482.27+ 2.3846X	2.3846 (1.6667 a 3.5000)	-482.27 (-859.0 a -240.0)	-0.3992 (-0.4704 a -0.3228)

**Tabla N°5:** Grupo 2. Bland-Altman Bias, regresión de Passing-Bablok y correlación de Pearson.

	BIAS DESEABLE	Bland Altman BIAS (95% CI)	Passing-Bablok Regresión			Correlación
			Regresión Lineal	Pendiente (95% CI)	Intercepto R (95% CI)	de Pearson 95% CI
RBC-O (10 <sup>6</sup> /uL) vs RBC 37°C	± 1.7%	0.7 (-0.89 a 2.25)	Y = 0.0819 + 0.9854X	0.9854 (0.8750 a 1.0920)	0.0819 (-0.2025 a 0.3906)	0.9375 (0.8906 a 0.9647)
HGB-O (g/L) vs HGB 37°C	±1.84%	4.0 (2.77 a 5.30)	Y = 2.6667 + 1.0556X	1.0556 (1.0000 a 1.1600)	2.6667 (-11.200 a 3.000)	0.9549 (0.9205 a 0.9746)
CHCM-O (g/L) vs CHCM 37°C	± 0.4%	-1.3 (-2.98 a 0.36)	Y = -284.20 + 1.8063X	1.8063 (1.0303 a 3.8333)	-284.20 (-987.67 a -14.03)	-0.0623 (-0.2258 a 0.3404)

## VI. Discusión de resultados

- Un problema recurrente que se enfrenta en un laboratorio hematología es la presencia de aglutininas frías, un hallazgo que es determinado generalmente por las alarmas del analizador, un recuento bajo de hematíes, un volumen corpuscular medio incrementado y un valor incongruente del CHCM ( $\text{CHCM} > 365 \text{ g/L}$ ). Para contrarrestar el efecto de las aglutininas frías se aplica la técnica de precalentamiento de la muestra a  $37^\circ\text{C} / 2\text{h}$  propuesta por Finland en 1945 y se procesa de inmediato en el analizador antes de que se revierta la aglutinación. Estudios anteriores afirman que se puede obtener los mismos resultados a través del canal RET (método óptico). Antes de evaluar el método óptico en muestras con aglutininas frías se decidió comparar los dos métodos (impedancia/fotometría y óptico) en muestras con un  $\text{CHCM} < 366 \text{ g/L}$ . En el estudio de Roccaforte et al (2019) en 60 muestras con  $\text{CHCM} < 370 \text{ g/L}$  que no mostraban interferencias se empleó el coeficiente de correlación de Pearson donde se encontró una fuerte correlación al comparar los dos canales (canal de impedancia y canal RET) para los parámetros RBC vs RBC-O y HGB vs HGB-O ( $r = 0.96$  y  $r = 0.96$ , respectivamente), excepto para el CHCM ( $r = 0,69$ ). En el presente trabajo, en 500 muestras con  $\text{CHCM} < 366 \text{ g/L}$  sin interferencias, se encontró también buena correlación para los parámetros RBC y HGB ( $r = 0.997$  y  $r = 0.987$ ), excepto para el CHCM ( $\text{Rho} = -0.39$ ). En el estudio de Berda-Haddad et al (2016) para demostrar la capacidad de los parámetros ópticos XN-10 RET utilizaron el coeficiente de correlación intraclase (CCI) para 3901 muestras  $\text{CHCM} < 366 \text{ g/L}$  donde respectivamente para RBC vs RBC-O y HGB vs HGB- O fueron encontrados 0.990 y 0.987. En el presente trabajo se empleó el coeficiente de correlación de Pearson que refleja la intensidad de la asociación lineal entre dos variables, y se combinó con una prueba de Wilcoxin con datos pareados y se determinó la concordancia entre las mediciones utilizando el grafico de Bland-Altman. El punto de corte de  $\text{CHCM} > 365 \text{ g/L}$  se

estableció verificando los “flags” arrojados por el analizador que indica sospecha de presencias de aglutininas frías, el parámetro RBC reducido, incremento de VCM y la inspección visual de la muestra por el analizador.

- En el estudio de La Gioia et al (2018) consideraron un grupo de 48 muestras con un CHCM > 370 g/l donde no encontraron diferencias significativas entre RBC por impedancia precalentado a 37 °C/2h y RBC-O ( $p = 0.172$ ) así como entre cada uno de los parámetros considerados HGB 37°C vs HGB-O ( $p = 0.991$ ) y CHCM 37°C vs CHCM-O ( $p = 0.299$ ). En el presente estudio se analizaron 48 muestras y no se observaron diferencias significativas entre RBC 37°C y RBC-O ( $p = 0.390$ ) y CHCM 37°C vs CHCM-O ( $p = 0.13$ ) y si se encontró diferencias estadísticamente significativas en los parámetros de HGB 37°C vs HGB-O ( $p < 0.05$ ) los cual puede deberse a que en el estudio de La Gioia et al (2018), los investigadores indican que 31 de 48 muestras no tenían historia o antecedentes de crioaglutininas. En cambio, en el presente estudio se incluyeron 48 muestras con CHCM > 365g/L y todos ellos demostraban presencia de crioaglutininas.

Además, se observa diferencia en la población estudiada, las muestras de nuestro estudio tenían baja hemoglobina (media 99 g/L; rango (71 g/L–107 g/L) el otro estudio al trabajar con pacientes donde su nivel de hemoglobina oscila entre los valores normales se puede obtener un sesgo no relevante y a esto le sumamos que el ser un trabajo retrospectivo, no se puede asegurar que el precalentamiento de las muestras se hizo según un protocolo estandarizado. En cambio, la Gioia e investigadores trabajaron bajo condiciones controladas.

- En el estudio Roccaforte et al (2019) en 78 muestras con crioaglutininas (CHCM > 370 g/L) el sesgo (BIAS) obtenido entre el método de impedancia y óptico para los parámetros RBC y HGB fue de 0.54 y 0.16, respectivamente los cuales se encontraron dentro de los límites aceptables establecidos por Ricos et al (2014) a excepción del parámetro CHCM (0.57). En el presente estudio en 48 muestras con crioaglutininas y un CHCM > 365g/L, para el parámetro

RBC el sesgo obtenido no fue relevante (BIAS: 0.7) en cambio para los parámetros HGB y CHCM se observó un valor por encima del límite aceptable. Para el CHCM, al ser un parámetro derivado, es posible que la variabilidad de las mediciones directas que lo componen tiende a sumar en su estimación, aumentando el sesgo. Además, es posible que las muestras precalentadas a 37°C de nuestro estudio hayan mostrado una reversibilidad incompleta de las aglutininas frías. Por otro lado, no solo se evaluaron células normales, ya que muchas de las muestras pertenecían a pacientes con enfermedades hematológicas, por ende, había la preexistencia de blastos, linfocitos atípicos u otras células anormales que suelen ser frágiles al calor.

## VII. Conclusiones

- Al evaluar el coeficiente de correlación entre el parámetro de RBC por impedancia vs el RBC óptico en muestras con un CHCM  $< 366$  g/L (grupo 1) se encontró un R: 0.9973 con un intervalo de confianza de 0.9968– 0.9978, que indica una correlación muy alta entre la impedancia y el método óptico para el parámetro RBC.
- Al evaluar el coeficiente de correlación entre el parámetro de HGB por fotometría vs el HGB óptico de las muestras con un CHCM  $< 366$  g/L (grupo 1) se encontró un R: 0.9878 con un intervalo de confianza de 0.9854–0.9897 que indica una correlación alta entre la fotometría y el método óptico para el parámetro HGB.
- Para hallar la correlación entre el parámetro de CHCM vs CHCM-O en muestras con un CHCM  $< 366$  g/L (grupo 1) se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman, donde se encontró Rho: -0.3992 con un intervalo de confianza de -0.4704 a -0.3228. En consecuencia, observamos que existe una correlación baja negativa.
- En muestras con una CHCM  $> 365$  g/L con presencia de aglutininas frías, al evaluar el coeficiente de correlación entre los parámetros de RBC por impedancia previa incubación a  $37^{\circ}\text{C}$  (RBC  $37^{\circ}\text{C}$ ) se encontró un R: 0.9180 con un intervalo de confianza de 0.8567 a 0.9538 que indica una correlación alta entre el método óptico y el método de impedancia post incubación a  $37^{\circ}\text{C}$  para el parámetro RBC.
- En muestras con una CHCM  $> 365$  g/L con presencia de aglutininas frías, al evaluar el coeficiente de correlación entre los parámetros de HGB por fotometría previa incubación a  $37^{\circ}\text{C}$  (HGB  $37^{\circ}\text{C}$ ) se encontró un R: 0.9549 con un intervalo de confianza de 0.9205– 0.9746 que indica una correlación alta entre el método óptico y el método de fotometría post incubación a  $37^{\circ}\text{C}$  para el parámetro HGB.

- En muestras con una CHCM > 365 g/L con presencia de aglutininas frías (grupo 2) para hallar la correlación entre el parámetro de CHCM previa incubación a 37°C (CHCM 37°C) vs CHCM-O se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman (Rho), se encontró un Rho: 0.0387 con un intervalo de confianza de -0.248 a 0.319. Se concluye que existe una correlación muy baja.
- Los valores promedio para RBC por impedancia en el grupo 1 fueron de:  $3.67 \pm 0.86 \times 10^6/\mu\text{L}$  y para el método óptico de  $3.45 \pm 0.79 \times 10^6/\mu\text{L}$ , observamos una diferencia estadísticamente significativa, lo que determina que los valores son diferentes en los dos métodos,  $p < 0.05$ .
- Los valores promedio para la HGB por fotometría en el grupo 1 fueron de:  $111.6 \pm 24 \times 10^6/\mu\text{L}$  y para el método óptico de  $105.1 \pm 23.4 \times 10^6/\mu\text{L}$ , observamos una diferencia estadísticamente significativa, lo que determina que los valores son diferentes en los dos métodos,  $p < 0.05$
- Los valores promedio para el CHCM en el grupo 1 fueron de  $334.8 \pm 13.8 \times 10^6/\mu\text{L}$  y para el método óptico de  $318.7 \pm 16.4 \times 10^6/\mu\text{L}$ , observamos una diferencia estadísticamente significativa, lo que determina que los valores son diferentes en los dos métodos,  $p < 0.05$
- Los valores promedio para el RBC por impedancia en el grupo 2 fueron de  $2.13 \pm 0.62 \times 10^6/\mu\text{L}$ , para el método óptico de  $2.86 \pm 0.79 \times 10^6/\mu\text{L}$  y para el método de impedancia post incubación a 37°C de  $2.87 \pm 0.37 \times 10^6/\mu\text{L}$ . En la prueba de Wilcoxon para muestras pareadas realizada a los valores de RBC-O y RBC 37°C no se encontró una diferencia estadísticamente significativa, lo que determina que los valores en los dos métodos son intercambiables,  $p = 0.39$
- Los valores promedio para la HGB por fotometría en el grupo 2 fueron de  $90 \pm 8.24 \times 10^6/\mu\text{L}$ , para el método óptico de  $86 \pm 7.68 \times 10^6/\mu\text{L}$  y para el método de fotometría post incubación a 37°C de  $89.4 \pm 8.40 \times 10^6/\mu\text{L}$ . En la prueba de Wilcoxon para muestras pareadas

realizada a los valores de HGB-O y HGB 37°C observamos una diferencia estadísticamente significativa, lo que determina que los valores son diferentes en los dos métodos,  $p < 0.05$

- Los valores promedio para el CHCM fueron de  $480.9 \pm 121.4 \times 106/uL$ , para el método óptico de  $346.1 \pm 12 \times 106/uL$  y para el método de impedancia post incubación a 37°C de  $341.8 \pm 16.3 \times 106/uL$ . En la prueba de Wilcoxon para muestras pareadas realizada a los valores de CHCM-O y CHCM 37°C no se observó una diferencia estadísticamente significativa, lo que determina que los valores son intercambiables entre los dos métodos,  $p = 0.130$

- El sesgo promedio  $\pm$  DE entre el RBC por impedancia y RBC óptico en el gráfico de Bland-Altman en el grupo 1 fue de  $6.22 \pm 1.77$ , y los límites de acuerdo fueron 6.06 a 6.37. Con respecto a nuestro conjunto de datos, esos dos métodos no se pueden usar indistintamente ya que se observó un valor por encima del límite aceptable  $\pm 1.7\%$

- El sesgo promedio  $\pm$  DE entre la HGB por fotometría y HGB óptica en el gráfico de Bland-Altman en el grupo 1 fue de  $6.19 \pm 3.66$ , y los límites de acuerdo fueron de 5.86 a 6.51. Con respecto a nuestro conjunto de datos, esos dos métodos no se pueden usar indistintamente ya que se observó un valor por encima del límite aceptable  $\pm 1.84\%$ .

- El sesgo promedio  $\pm$  DE entre la CHCM por impedancia y CHCM óptica en el gráfico de Bland-Altman en el grupo 1 fue de  $4.96 \pm 8.22\%$ , y los límites de acuerdo fueron de 4.24 a 5.68. Con respecto a nuestro conjunto de datos, esos dos métodos no se pueden usar indistintamente ya que se observó un valor por encima del límite aceptable  $\pm 0.4 \%$ .

- El sesgo promedio  $\pm$  DE entre el RBC por impedancia post incubación a 37°C y RBC óptico en el gráfico de Bland-Altman en el grupo 2 fue de  $0.68 \pm 5.41$ , y los límites de acuerdo fueron -0.88 a 2.25. Con respecto a nuestro conjunto de datos, esos dos métodos se pueden usar indistintamente ya que se observó un valor por debajo del límite aceptable  $\pm 1.7\%$ .

- El sesgo promedio  $\pm$  DE entre la HGB por fotometría post incubación a 37°C y HGB óptica en el gráfico de Bland-Altman en el grupo 2 fue de  $4.03 \pm 4.36$ , y los límites de acuerdo

fueron de 2.76 a 5.29. Con respecto a nuestro conjunto de datos, esos dos métodos no se pueden usar indistintamente ya que se observó un valor por encima del límite aceptable  $\pm 1.84\%$ .

- El sesgo promedio  $\pm$  DE entre la CHCM por impedancia post incubación a 37°C y CHCM óptica en el gráfico de Bland-Altman en el grupo 2 fue de  $-1.31 \pm 5.75\%$ , y los límites de acuerdo fueron de -2.98 a 0.36. Con respecto a nuestro conjunto de datos, esos dos métodos no se pueden usar indistintamente ya que se observó un valor por encima del límite aceptable  $\pm 0.4\%$ .

- El análisis de regresión de Passing Bablok para el parámetro RBC del grupo 1 revela un intercepto de 0.039 (CI 95%: 0.018 a 0.059) y la pendiente de 0.985 (CI 95%: 0.875 a 1.092) indicando que hay una pequeña diferencia constante entre el método de impedancia vs método óptico. Sin embargo, no existe una diferencia proporcional.

- El análisis de regresión de Passing Bablok para el parámetro HGB del grupo 1 revela un intercepto de -4.1818 (CI 95%: -7.000 a -2.461) y la pendiente 0.977 (CI 95%: 0.961 a 1.000) indicando que hay una diferencia constante entre el método de fotometría vs método óptico. Sin embargo, no existe una diferencia proporcional.

- El análisis de regresión de Passing Bablok para el parámetro CHCM del grupo 1 revela un intercepto de -482.27 (CI 95%: -859.0 a -240.0) y la 2.3846 (CI 95%: 1.6667 a 3.5000) indicando que hay una enorme diferencia constante y proporcional entre el método de impedancia vs método óptico del parámetro CHCM.

- El análisis de regresión de Passing Bablok para el parámetro RBC del grupo 2 revela un intercepto de 0.0819 (CI 95%: -0.2025 a 0.3906) y la pendiente de 0.9854 (CI 95%: 0.8750 a 1.0920) indicando que no existe hay una diferencia constante ni proporcional entre el método de impedancia post incubación a 37°C vs método óptico.

- El análisis de regresión de Passing Bablok para el parámetro HGB del grupo 2 revela un intercepto de 2.6667 (CI 95%: -11.200 a 3.000) y la pendiente 1.0556 (CI 95%: 1.0000 a

1.1600) indicando que no existe diferencia constante ni proporcional entre el método de fotometría post incubación a 37°C vs método óptico.

- En el grupo 2, el análisis de regresión de Passing Bablok para el parámetro CHCM del grupo 2 revela un intercepto de -482.27 (CI 95%: -859.0 a -240.0) y la 1.8063 (CI 95%: 1.0303 a 3.8333) indicando que hay una enorme diferencia constante y una diferencia proporcional entre el método de fotometría post incubación a 37°C vs método óptico.

En conclusión, a pesar de que se logra obtener un CHCM < 366 g/L a través del canal óptico, las metodologías comparadas en los parámetros no muestran resultados intercambiables, tal como se detalla líneas arriba. Se observa que los resultados por impedancia con un precalentamiento a 37°C tienen concordancia con los resultados del canal óptico, pero solo para el parámetro RBC. En los parámetros HGB y CHCM existe diferencias estadísticamente significativas.

## VIII. Recomendaciones

- La presencia de aglutininas frías es un hallazgo que se puede encontrar durante la rutina, pero pueden existir otras causas asociadas que deben ser evaluadas y que otros parámetros pueden ser indicadores de la presencia de determinado interferente. Y de esa manera evaluar la utilidad de los parámetros ópticos frente a la presencia de interferentes diferentes a las aglutininas frías.
- Sería útil e importante estandarizar el tiempo de incubación de todas los pacientes que evidencian presencia de aglutininas frías que asegure que el tiempo sea el suficiente para inhibir la aglutinación y obtener resultados más confiables.
- Estudios posteriores deben evaluar la influencia del pretratamiento con calor sobre las muestras y en que puede afectar a los parámetros hematológicos y la resolución completa de la aglutinación de eritrocitos. Una segunda lamina de una muestra precalentada puede usarse para descartar aglutinación residual.
- El presente estudio se realizó en un centro especializado en enfermedades oncológicas, la cual incluye neoplasias hematológicas, que pueden actuar como otros interferentes, sobreestimando algunos parámetros. se debería ampliar el estudio en otro tipo de población.

## IX. Referencias

- Alonso, M. (2013). Índices Reticulocitarios: Fracción inmadura de reticulocitos (FIR), Contenido de Hemoglobina de Reticulocitos (CHr). *Laboratorio en Hematología*, 17(1), 67-69. Obtenido de <http://www.sah.org.ar/revista/numeros/vol17-n1-67-69-sah1-5c.pdf>
- Bain, B., Bates, I., & Laffan, M. (2017). *Dacie and Lewis Practical Hematology* (veinte ed.). Elsevier. Obtenido de <https://books.google.com.pe/books?id=rEPUDAAAQBAJ&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>
- Berda-Haddad, Y., Faure, C., Boubaya, M., Arpin, M., Cointe, S., Franke, D., . . . Dignat-George, F. (2016). Increased Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration: artefact o pathological condition? *Internacional Journal of Laboratory Hematology*, 39(1), 32-41. doi:10.1111/ijlh.12565
- Brugnara, C. (2000). Reticulocyte cellular indices: a new approach in the diagnosis of anemias and monitoring of erythropoietic. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 37, 93-130. doi:10.1080/10408360091174196
- Bull, S., Houwen, B., Koekpe, J., & Assendelft, V. (2000). References and selected procedures for the quantitative determination of hemoglobin in blood. *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 20(28). Obtenido de [https://clsi.org/media/2394/h15a3e\\_sample.pdf](https://clsi.org/media/2394/h15a3e_sample.pdf)
- Cantero M, C. J. (1996). Interference from lipemia in cell count by hematology analyzers. *Clinical Chemistry*, 42(6), 987-988. Obtenido de <http://clinchem.aaccjnls.org/content/42/6/987.long>
- Cornbleet, J. (1983). Spurious Results from Automated Hematology Cell Count. *Laboratory Medicine*, 14(8), 509-514. doi:10.1093/labmed/14.8.509

- Culligan, J., Keogh, W., & Fay, M. (2018). Evaluación de los parámetros ópticos de las células rojas en el Sysmex XN en pacientes con una concentración de hemoglobina corpuscular media >36.5g/dL. Obtenido de <https://www.biomedica.ie/poster-presentations/evaluation-sysmex-xn-optical-red-cell-paramters-patients-raised-mean-cellular-haemoglobin-concentrations-36-5g-dl/>
- Ferrero-Vacher, C., Senlis, J., Loustaunau, D., Aquaronne, D., Jeandel, P., & Sudaka, I. (2015). Utilisation des paramètres érythrocytaires Sysmex dans un cas d'hémolyse sévère. *Annales de biologie*, 73(6), 729-732. doi:10.1684/abc.2015.1093
- García, B., Rubio, F., & Crespo, M. (2015). Técnicas de análisis hematológicos. España: Ediciones Paraninfo.
- Godon A, G. M.-T. (2012). Automated hematology analysers and spurious counts Part 3. Haemoglobin, red blood cells, cell count and indices, reticulocytes. *Annales de Biologie Clinique*, 70(2), 155-168. doi:10.1684/abc.2012.0685
- Gomez, M. (2009). Introducción a la metodología de la investigación científica. Córdoba, Argentina: Editorial Brujas. Obtenido de <http://ebookcentral.proquest.com/lib/bibudlimasp/detail.action?docID=3185747>
- Goossens, W., Van Duppen, V., & Verwilghen, R. (1991). K2- or K3-EDTA: the anticoagulant of choice in routine haematology. *International Journal of Laboratory Hematology*, 13(3), 291-295. doi:10.1111/j.1365-2257.1991.tb00284.x|
- Hernández Reyes, L., Fundora Sarraff, T., & Andrade Ruiseco, M. (2015). El conteo automático de reticulocitos: una herramienta de uso diagnóstico, clínico e investigativo. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología e Inmunoterapia*, 31(4), 362-371. Obtenido de <http://scielo.sld.cu/pdf/hih/v31n4/hih04415.pdf>
- Hernández, R., Fernandez, C., & Baptista, M. d. (2010). Metodología de la Investigación (Quinta ed.). Mac Graw Hill.

- Hernández, S., Fernández, C., & Bastidas, P. (2010). Metodología de la investigación (quinta ed.). Lima, Perú: Mc GrawHill.
- Hernández-Reyes, L. H. (2013). Avances y aplicación clínica de la citometría hemática. *Revista Cubana Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 29(1), 24-34. Obtenido de <http://www.sld.cu/sitios/ih>
- Hernández-Reyes, L. H. (2013). Avances y aplicación clínica de la citometría hemática. *Revista Cubana Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 29(1). Obtenido de <https://www.medigraphic.com/pdfs/revcubheminmhem/rch-2013/rch131d.pdf>
- Holt, J., DeWandler, M., & Arvan, D. (1982). Spurious elevation of the electronically determined mean corpuscular volume and hematocrit caused by hyperglycemia. *American Journal of Clinical Pathology*, 77, 561-567. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7081150?dopt=Abstract>
- Hoon Rim, J., Hee Chang, M., Oh, J., Yung Gee, H., Kim, J.-H., & Yoo, J. (2018). Effects of Cold Agglutinin on the Accuracy of Complete Blood Count Results and Optimal Sample Pretreatment Protocols for Eliminating Such Effects. *Annals of laboratory medicine*, 38(4), 371-374. doi:10.3343/alm.2018.38.4.371
- Jaramillo, P., & Acevedo, P. (2013). Interferencia de las alteraciones morfológicas de los eritrocitos en el plaquetograma en pacientes con anemia de volumen corpuscular medio bajo, hospitalizados en la IPS de la Universidad de Antioquia, sede clínica León XIII. *Universitas medicas*, 54(4), 443- 450. Obtenido de <file:///C:/Users/Sofia/Downloads/16252-Texto%20del%20art%C3%ADculo-57509-1-10-20160429.pdf>
- Kratz, A., Ferraro, M., Sluss, P., & Lewandrowski, K. (2004). Reference Laboratory Values. *The New England Journal of Medicine*, 351, 1548-52. doi:10.1056/NEJMcp049016

- La Gioia, A., Fumi, M., Fiorini, F., Pezzati, P., Balboni, F., Bombara, M., . . . Fiorini, M. (2018). Short preheating at 41°C leads to a red blood cells count comparable to that in RET channel of Sysmex analysers in samples showing cold agglutination. *Journal of clinical pathology*, 71(8), 729-734. doi:10.1136/jclinpath-2017-204954
- Lerma Gonzales, H. D. (2009). Metodología de la investigación. Propuesta, anteproyecto y proyecto (Cuarta ed.). Bogota: Ecoe Ediciones. Obtenido de <http://roa.ult.edu.cu/bitstream/123456789/3244/1/METODOLOGIA%20DE%20LA%20INVESTIGACION%20PROPUESTA%20ANTEPROYECTO%20Y%20PROYECTO.pdf>
- Lerma, H. (2009). Metodología de la investigación: propuesta, anteproyecto y proyecto. Bogota, Colombia: Ecoe ediciones. Obtenido de <https://ebookcentral-proquest-com.ezproxy.ulima.edu.pe/lib/bibudlimasp/reader.action?docID=3198406&query=>
- Lewis, S., BJ, B., & Bates, L. (2008). Dacie y lewis. Hematología Práctica (decima ed.). Madrid, Español: Elsevier.
- Manrique, B., Cambiazzo, S., & Santillan, M. (2014). Utilidad del parámetro RBC-O del SYSMEX XN-1000 para detección y corrección del efecto de las crioagglutinas. Asociación bioquímica argentina, 1. Obtenido de <https://www.aba-online.org.ar/e-poster/3-viernes-25-08-2017-monitor-4-hematologia-inmunologia-quimica>
- Mayan H, G. O. (1996). Multiple spurious laboratory results in a patient with hyperlipemic pancreatitis treated by plasmapheresis. *srael Journal of Medical Sciences*, 32(9), 762-766. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8865833?dopt=Abstract>
- Niño, V. (2011). Metodología de la Investigación: diseño y ejecución. Bogota, Colombia: Ediciones de la U. Obtenido de <https://ebookcentral-proquest-com.ezproxy.ulima.edu.pe/lib/bibudlimasp/reader.action?docID=3198784&query=>

- Nogales Fernandez, A. (2004). *Investigación y Técnicas de Mercado (Segunda ed.)*. Madrid : Editorial ESIC.
- Passing, H., & Bablok, W. (1983). A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in Clinical Chemistry, Part I. *J Clin Chem Clin Biochem*, 21, 709-20. doi:10.1515/cclm.1983.21.11.709
- Reguant, M., & Martinez-Olmo, F. (2014). *Operacionalización de conceptos/variables*. España, Barcelona: Deposito digital de la UB. Obtenido de <http://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/57883/1/Indicadores-Repositorio.pdf>
- Richardson, D., Bartlett, C., & Will, E. (2001). Optimizing erythropoietin therapy in hemodialysis patients. *American Journal of Kindney Disease*, 38(1), 109-117. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7081150?dopt=Abstract>
- Ricos, C., Alvarez, V., Cava, F., Garcia-Lario, J., Hernandez, A., Jimenez, C., . . . Simon, M. (2014). Desirable specifications for total error, imprecision, and bias, derived from intra- and inter-individual biologic variation. Obtenido de Westgard QC: <http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>
- Roberts, W., Fontenot, J. D., & Lehman, C. (2000). Overestimation of Hemoglobin in a Patient With an IgA-K Monoclonal Gammopathy. *Pathology & Laboratory Medicine*, 124(4), 616-618. doi:10.1043/0003
- Roccaforte, V., Sciarini, F., Proserpio, V., Buonocore, R., Zavaronia, E., Burati, S., . . . Pastori, S. (2019). Use of the reticulocyte channel warmed to 41 °C of the XN-9000 analyzer in samples with the presence of cold agglutinins. *Hematology, transfusion and cell therapy*, 9. doi:<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.01.004>
- Rodak, B., Keohane, E., & Fritsma, G. (2014). *Hematología: Fundamentos y aplicaciones clínicas (Cuarta ed.)*. México D.F., Mexico: Editorial Médica Panamericana.

- Suardíaz, J., Cruz, C., & Colina, A. (2004). *Laboratorio clínico*. La Habana: Editorial Ciencias Médicas.
- Swiecicki, P., Hegerova, L., & Gertz, M. (2013). Cold agglutinin disease. *American Society of Hematology*, 122(7), 1114-21. doi: 10.1182/blood-2013-02-474437
- sysmex corporation. (2019). Recuperado el 25 de Enero de 2019, de Sysmex corporation: <https://www.sysmex.com/>
- Sysmex Corporation. (2019). Recuperado el 29 de enero de 2019, de products: <https://www.sysmex.com>
- Sysmex, c. (2019). Academia centro de conocimiento y tecnología: Sysmex Corporation. Recuperado el febrero de 2019, de <https://www.sysmex.es/academia/centro-de-conocimiento/tecnologia>
- Walker, H., Hall, W., & Hurst, J. (1990). *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations* (tercera ed.). Boston: Butterworths. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK201/>
- Wang, H., Lu, L., Zhou, Y., Liu, J., Qian, M., Tang, W., . . . Pan, S. (2013). Use of RBC-O and S-MCV parameters of sysmex XE-2100 in a patient with RBC cold agglutination. *Clinical laboratory*, 59(1-2), 217-219. doi:10.7754/Clin.Lab.2012.120718
- Zandecki, M., Genevieve, F., Gerard, J., & Godon, A. (2007). Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part II: White blood cells, red blood cells, haemoglobin, red cell indices and reticulocytes. *International Society for Laboratory Hematology*, 29(1), 21-41. doi:10.1111/j.1365-2257.2006.00871.x

## IX. ANEXOS

### 9.1 Plan de procedimientos

#### 9.1.1 Instrumento de obtención de datos

Anexo 9.3

#### 9.1.2 Obtención de datos

Para la realización de este estudio se conformaron 2 grupos: un grupo de muestras con CHCM < 366g/l (GRUPO 1); y otro de muestras con CHCM > 365g/dl (GRUPO 2) para obtener datos, y posteriormente cumplir con los objetivos del estudio. Se extrajo la data de las muestras de pacientes del analizador hematológico automatizado Sysmex XN 1000 del servicio de hematología del INEN de los meses de abril a octubre del 2019, de la siguiente manera.

La data obtenida se llevó a un formato de Microsoft Excel donde estaban contenidos los parámetros de interés, las señales de alarma “Q-flag turbidity” y “RBC agglutination?”, fecha de análisis, código de barras y módulo de procesamiento de las muestras de los pacientes que habían sido procesadas en ese intervalo de tiempo.

#### 9.1.3 Procesamiento

##### A. Determinación de la muestra

GRUPO 1 (Población CHCM < 366g/l): muestra de 500 GRUPO 2 (Población CHCM > 365g/dl): muestra de 48

**ETAPA I:** Primer filtrado, eliminar aquellos datos que presentaban las siguientes alarmas:

- Fuera de linealidad
- Alarma de ERROR
- Muestras con parámetros que no fueron medidos
- Los dos últimos dígitos del código de barras diferente a 22 (código del servicio de hematología)

- Muestras de TAMO (aspirados de medula ósea)

**ETAPA II:** Segundo filtrado, agrupar los datos según los siguientes parámetros: Datos con parámetros medidos:

- RBC (recuento de eritrocitos)
- HGB (hemoglobina)
- RBC-O (recuento óptico de eritrocitos)
- HB-O (medición óptica de hemoglobina) Datos con parámetros calculados:
- CHCM (concentración de hemoglobina corpuscular media)
- CHCM-O (concentración de hemoglobina corpuscular, calculo a partir de recuento óptico)

Datos con alarmas, parámetros cualitativos:

- Q-Flag turbidity (interferencia, turbidez)
- RBC agglutination?

### **ETAPA III:**

El criterio para pertenecer al GRUPO 2 fue que el parámetro cualitativo “Q-flag turbidity” y RBC agglutination? debe dar un valor mayor y/o igual a 90. El filtrado del parámetro cualitativo demuestra presencia de un factor aglutinante que provoca turbidez en la muestra y resulta en un recuento de hematíes incorrecto. El total de muestra del GRUPO 2 son: 48

El criterio único para pertenecer al GRUPO 1 fue que todas las muestras consignen un valor de CHCM < 366 g/l

El total de muestra del GRUPO 1 son: 500

### **ETAPA 4:**

En el sistema informático del laboratorio LABCORE se busca mediante el código de barras del paciente pertenecientes al GRUPO 2 los valores que se corrigieron mediante una incubación a 37°C.

El total de muestra con precalentamiento son: 48

### **C. Comparaciones y desviaciones aceptables entre ambos métodos.**

Para definir la capacidad del analizador de proporcionar resultados idénticos para un perfil de glóbulos rojos utilizando métodos de impedancia y ópticos, se realizó una comparación incluyendo 500 pacientes adultos no seleccionados en el rango completo de valores clínicos (Hb desde 31 g / L hasta 201 g / L y RBC desde  $1.04 \times 10^{12}$  / L hasta  $6.70 \times 10^{12}$  / L), con solo criterios selectivos que informaron que CHCM fue inferior a 366 g / L.

#### **9.1.4 Análisis de datos**

##### **A. Registro y tabulación**

Los resultados obtenidos por los métodos tanto de impedancia como de citometría de fluorescencia, así como los interferentes reportados en el equipo fueron registrados y debidamente filtrado en hojas del programa EXCEL del sistema operativo Windows XP. (Anexo 9.4)

Los nuevos parámetros utilizados y evaluados en este estudio proporcionados por el canal óptico son RBC-O, HGB-O.

##### **B. Separación de intervalos**

Los datos de obtenidos se clasificaron en 2 intervalos para su posterior análisis según el valor del parámetro de CHCM por impedancia. Los intervalos fueron:

- Población CHCM<366g/l
- Población CHCM>365g/l

A su vez se clasifica la población CHCM>365g/l de la siguiente manera:

- Grupo 2: muestra con aglutininas frías.