

Utilidad de los parámetros del contador hematológico en el diagnóstico de anemias: marcadores bioquímicos clásicos

Utility of haematological analyzer parameters in the diagnosis of anaemia: classic biochemical markers.

Maydana L

Laboratorio D'Agostino-Bruno, La Plata

lmaydana@dagostino-bruno.com.ar



NUEVOS MARCADORES
BIOQUÍMICOS EN
EQUIPOS DE ÚLTIMA
GENERACIÓN PARA EL
ESTUDIO DE
PACIENTES CON ANEMIA

HEMATOLOGÍA
Volumen 21 N° Extraordinario: 120-125
XXIII Congreso Argentino
de Hematología
Noviembre 2017

Palabras claves: anemia,
contador hematológico,
interpretación clínica.

Keywords: anaemia,
automated blood cell count,
medical review criteria.

Resumen

La anemia es un problema global de salud pública, que afecta tanto a países desarrollados como sub-desarrollados, y a todas las edades. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), se define la anemia cuando los niveles de hemoglobina (Hb) se encuentran por debajo de 12 g/dl en mujeres y 13 g/dl en hombres. Sin embargo, se debe tener en cuenta que el rango de distribución normal de la Hb varía con la etnia, sexo, estado fisiopatológico y altura a nivel del mar. La anemia es multifactorial. Para su

clasificación y diagnóstico, se deben tener en cuenta parámetros hematológicos, mecanismo fisiopatológico e historia clínica del paciente. Con el advenimiento de los contadores hematológicos automatizados, los médicos pueden acceder a información muy útil para el estudio de los pacientes con anemia. Los bioquímicos deben conocer los fundamentos y el manejo de los equipos con los que trabajan a diario, de manera tal que la interpretación de los resultados obtenidos sea la correcta.

Abstract

Anaemia is a global public health problem affecting both developing and developed countries at all ages. According to the World Health Organization (WHO), anemia is defined as hemoglobin (Hb) levels <12.0 g/dL in women and <13.0 g/dL in men. However, normal Hb distribution varies not only with sex but also with ethnicity, gender and physiological status. Anaemia is often multifactorial.

Introducción

Según la OMS, se define anemia a la disminución de la concentración de hemoglobina (Hb), generando un descenso en la capacidad de la sangre para el transporte de oxígeno en el organismo. El valor normal o esperable para un paciente varía según el sexo, la edad, estado fisiológico (como el embarazo) y las condiciones ambientales⁽¹⁾.

La anemia es un problema de salud mundial que afecta a pacientes de todas las edades (alrededor de 500 millones de mujeres en edad fecunda), siendo un problema social y económico, y un indicador de mal estado de nutrición y salud. El escenario varía según el estatus económico: la prevalencia es mayor en personas de bajos recursos económicos, con desnutrición o mujeres que hayan dado a luz recientemente. En países sub-desarrollados las principales causas de anemia son las infecciones, como malaria, parasitosis intestinal o deficiencia de hierro. Por otro lado, en países desarrollados, o de mayores recursos económicos, la anemia se observa principalmente en personas con cáncer, hemorragias gastrointestinales o con enfermedad renal crónica⁽²⁾. En algunas zonas geográficas como África, India o el área del Mediterráneo, las formas hereditarias de anemia como la drepanocitosis o la talasemia son endémicas y representan un problema socio-económico muy importante; pero debido a las corrientes migratorias que se suceden continuamente, la epidemiología de estas anemias ha cambiado de manera tal que deben ser consideradas entre los diagnósticos diferenciales en toda la geografía mundial.

Historia de la automatización

Históricamente, el estudio de un paciente con sospecha de anemia incluye la medida del hemograma a partir de una muestra de sangre obtenida por pun-

The hematologic parameters, the underlying pathological mechanism and patient history should be taken into account for its classification and diagnosis. The automated blood cell count has brought suitable information that supports physicians in the study of patients with anemia. The clinical laboratory professional must understand and know how the instrument works to achieve an accurate interpretation of patient's results.

ción venosa, y recogida en tubos con EDTA-K₂, según normas internacionales⁽³⁾.

El hemograma constituye hoy en día uno de los exámenes de laboratorio más solicitados, ya que, además de representar la forma de estudio inicial del paciente, también se utiliza para su control evolutivo y terapéutico.

Las magnitudes que constituyen un hemograma son fundamentalmente todas las relacionadas con el recuento celular (eritrocitos, leucocitos y plaquetas), la concentración de Hb, hematocrito (HCT), índices hematimétricos (volumen corpuscular medio -VCM-, hemoglobina corpuscular media -HCM- y concentración de hemoglobina corpuscular media -CHMC-) y la fórmula leucocitaria.

Desde la década del 50 se encuentran en el mercado un número elevado de autoanalizadores, todos ellos de gran calidad, que se diferencian por un mayor o menor grado de automatización, y el aporte de diferentes parámetros. En general, trabajan sin la necesidad de que el operador diluya las muestras en forma manual. Inclusive, cuentan con un mecanismo de agitación (brazo agitador) y perforación del tapón, emplean una cantidad muy pequeña de sangre entera (20-50 µl) y en menos de 60 segundos suministran un informe completo de las magnitudes citadas en valores absolutos o relativos según el caso, empleando el sistema internacional (SI) de unidades. Los más modernos permiten la selección de aquel tubo al cual es necesario un análisis más exhaustivo al microscopio, realizando el extendido de sangre dentro del mismo equipo.

Los primeros contadores hematológicos fueron desarrollados por Coulter y Crosland-Taylor, con diferente basamento en la medida. En el instrumento descrito por Coulter, las células son conducidas a

través de un estrecho orificio, detectándose los cambios de impedancia. Ésta es efectivamente medida en la zona sensora situada entre los electrodos colocados a ambos lados del orificio. Así, las células funcionan como aislantes frente a los diluyentes salinos, de modo que la impedancia aumenta transitoriamente a medida que las células pasan a través de la zona sensora. Los cambios de impedancia transitorios producen impulsos eléctricos que pueden ser contados. Estos instrumentos han sido llamados contadores de **apertura-impedancia (Figura 1)**.

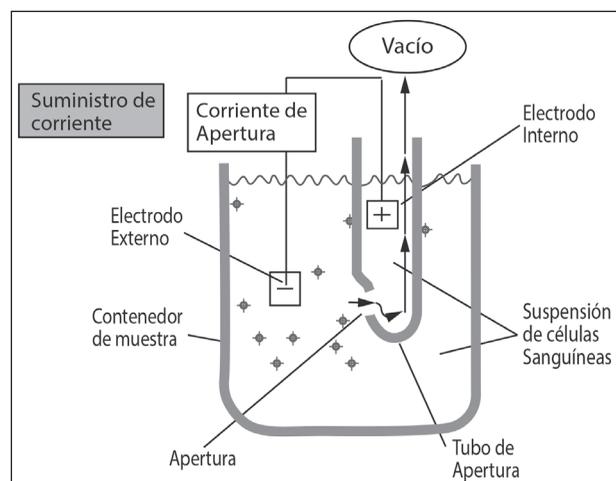


Figura 1

El instrumento descrito por Crosland-Taylor se basa en hacer que las células pasen a través de un delgado haz de luz. La zona sensora está restringida parcialmente por la estrechez del haz de luz y por el pasaje de células en una corriente de líquido muy delgada. A medida que las células pasan a través de la zona sensora, interceptan el haz de luz que se dispersa, pudiendo ser colectada por un sistema óptico adecuado y medida por un fotómetro. Los aumentos transitorios en la luz dispersada crean impulsos desde el fotómetro, que luego pueden ser contados electrónicamente. Por ello estos sistemas son llamados contadores de **dispersión de luz (Figura 2)**.

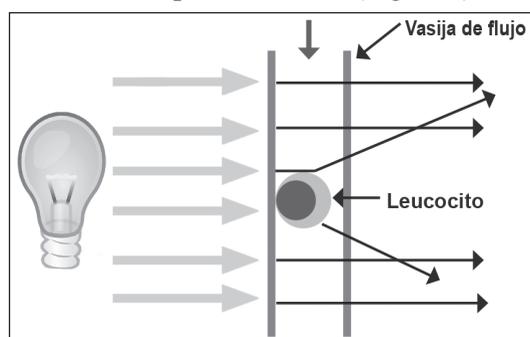


Figura 2

Si bien la automatización se encuentra ampliamente instalada en los laboratorios de análisis clínicos, no debemos desestimar los métodos manuales, ya que son la base de algunos métodos de referencia en el laboratorio hematológico, a los que aún es necesario recurrir cuando hay discrepancia con los métodos automatizados. Son de bajo costo y suelen utilizarse en laboratorios de baja complejidad.

Marcadores bioquímicos clásicos

Hemoglobina

La metodología para la determinación de Hb es la más uniforme en todos los instrumentos y presenta varias opciones de uso común. El método de referencia consiste en convertir la Hb en cianmetahemoglobina (HiCN) y luego medir la absorbancia alrededor de 540 nm. En la práctica, sin embargo, el tiempo del ciclo de los instrumentos disponibles en el mercado es tan corto que puede impedir que la conversión total se produzca por completo y que sean medidos los derivados intermedios. Por otro lado, la conversión a HiCN requiere el uso de un reactivo tipo Drabkin, que contiene cianuro de potasio y ferrocianuro de potasio, por lo tanto el efluente residual del instrumento puede no cumplir con los estándares ambientales en algunos países. Aun así, es considerado el método de referencia para la cuantificación de Hb y es utilizado para la comparación y normalización de otros métodos.

Los métodos alternativos -libres de cianuro- que usan laurilsulfato de sodio (LSS) o azida sódica, han sido introducidos en algunos instrumentos. Los resultados parecen compararse bien con los métodos de HiCN. Estos métodos no cianamidas, además de ser ecológicamente más seguros, son también promisorios en cuanto a futuras mejoras en la calibración y validación de nuevas mediciones de Hb.

Diversos estudios han demostrado diferencias significativas en la medida de Hb dependiendo del tipo de muestra empleado. Utilizando sangre capilar, los valores de Hb son más elevados que los medidos en muestras de sangre venosa, lo que podría provocar resultados negativos falsos en el estudio de un paciente con sospecha de anemia⁽⁸⁾.

Hematocrito

La medida del hematocrito (HCT) hace referencia a la masa de glóbulos rojos en relación a un volu-

men total de sangre entera analizada. El método de referencia es el microhematocrito que se lleva a cabo con sangre obtenida en capilares heparinizados de longitud definida, y que deben centrifugarse en equipos especiales a velocidad y tiempo controlados. Este método presenta un desempeño adecuado para su aplicación en la práctica clínica, y al utilizar equipamiento sencillo, está al alcance de todos los laboratorios.

Con la utilización de equipos automatizados, el recuento de eritrocitos, HCT y VCM puede obtenerse en la misma cámara de medida. El pasaje de una célula en los equipos basados en apertura-impedancia, o en dispersión de luz, genera un pulso eléctrico de una intensidad proporcional al volumen celular. El número de pulsos generados permite el recuento de eritrocitos. La intensidad del impulso da una idea del tamaño celular (VCM). Entonces, el valor del HCT puede obtenerse multiplicando el valor del recuento de eritrocitos por el valor del VCM. De igual manera, integrando la suma de todos los pulsos generados, se obtendría el HCT. Y luego, multiplicando el valor del HCT por el recuento de eritrocitos, se obtendría el VCM.

Debe tenerse presente que la presencia de microcoágulos, microcitosis extrema o crioaglutininas pueden generar interferencia en la medida de los parámetros citados. De igual manera, los cambios de osmolaridad, por ejemplo en los pacientes con hiperglucemia severa, generan valores de VCM y, en consecuencia, de HCT falsamente elevados. Por otro lado, en los pacientes con hiponatremia se ha observado un falso descenso en el valor del HCT⁽¹⁰⁾. El VCM es de gran utilidad a la hora de clasificar un paciente con anemia: aquellos pacientes con VCM < 80 fl presentarán una microcitosis, y si el VCM es >100 fl, se observará una macrocitosis⁽⁵⁾. Luego corresponderá estudiar las causas que pudieron llevar al desarrollo del tipo de anemia específico.

Eritrocitos

Por lo general, el recuento de eritrocitos se realiza sobre diluciones de sangre entera, con un umbral adecuado para discriminar entre plaquetas grandes y eritrocitos pequeños, ya que ambos tipos de células se analizan en la misma celda de medida, ya sea por apertura-impedancia o por dispersión de luz.

Dada la gran imprecisión que presenta el recuento de hematíes en cámara y el tiempo de realización

que insume, el CLSI y el ISCH han recomendado la no realización de esta práctica por metodología manual⁽⁵⁾.

Ancho de distribución eritrocitaria

El ancho de distribución eritrocitaria (ADE o RDW, por sus siglas en inglés) es una medida cuantitativa de la variación del volumen de los eritrocitos, equivalente al grado de anisocitosis. Puede expresarse como desvío estándar (SD) en unidades de fentolitros (fl) o como coeficiente de variación (CV%), (Figura 3.).

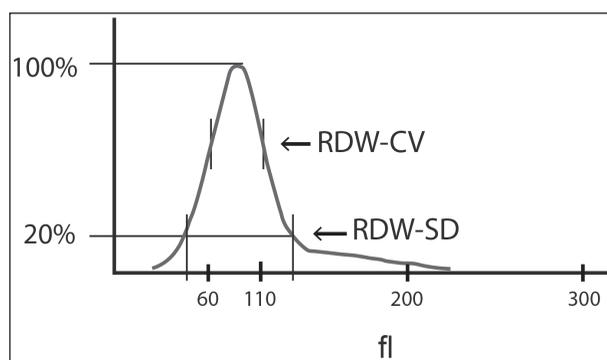


Figura 3

El ADE es utilizado junto con el valor del VCM en la clasificación de las anemias. Y en el caso de anemias microcíticas, el ADE contribuye al diagnóstico diferencial entre las anemias ferropénicas y las β-talasemias heterocigotas⁽⁶⁾.

Índices hematimétricos

Una vez obtenidos los valores de Hb, HCT y recuento de eritrocitos, estamos en condiciones de conocer los índices hematimétricos del paciente en estudio. Éstos son el resultado de diferentes cocientes entre los parámetros anteriormente nombrados (Figura 4)

- $VCM = HCT/GR \times 10$ (fl)
- $HCM = Hb/GR \times 10$ (pg)
- $CHCM = Hb/HCT \times 100$ (g/dl)

Figura 4

Si los índices son obtenidos mediante medidas automatizadas, sus valores son de gran utilidad clínica, ya que se utilizan para la clasificación de las anemias. Si las medidas son realizadas por métodos manuales, debido a las limitaciones ya descritas que presenta el recuento de eritrocitos, el único índice que podría utilizarse es el CHCM.

Alarmas e indicaciones para examinar un extendido de sangre

Todos los instrumentos producen alarmas diseñadas para alertar al operador sobre circunstancias en las cuales las mediciones pueden no ser confiables o en las que puede haber presencia de células anormales, como blastos o eritrocitos nucleados en sangre periférica, y por lo tanto amerita la visualización microscópica del extendido de sangre periférica. Esto deberá ser configurado en el instrumento utilizado en cada laboratorio, de manera tal que los criterios de visualización de frotis pueden variar entre diferentes laboratorios. Existen recomendaciones internacionales al respecto⁽¹⁵⁾. Cada laboratorio deberá evaluar la aplicabilidad de estas reglas⁽¹⁶⁾.

Control de calidad en el laboratorio hematológico

El objetivo fundamental de un laboratorio es representar en forma numérica el estado fisiopatológico del paciente en estudio. Para esto es fundamental contar con equipamiento que ayude al profesional a alcanzar su meta. Una de las herramientas con la que se cuenta es el uso de materiales de control de calidad (CC), donde el operador conoce fehacientemente el valor esperado para el mismo. Con esto, el profesional logrará analizar muestras e informarlas con el mínimo error aleatorio posible. A su vez, diferentes organismos científicos recomiendan la participación en algún programa de evaluación externa, el cual consiste en comparar los resultados del propio laboratorio con los obtenidos por un conjunto de laboratorios que emplean el mismo material de control y analizan la misma magnitud con el fin de identificar posibles errores sistemáticos en los equipos empleados⁽¹¹⁾.

Ambos programas no son excluyentes, y cumpliendo con ellos se logrará alcanzar el objetivo fundamental y, al analizar una muestra, el valor informado reflejará la situación del paciente en estudio de manera fidedigna.

Por otro lado, es importante recalcar que la variación analítica que acompaña cada medida realizada en el laboratorio debe ser inferior a la variabilidad biológica que presentan los individuos, de tal manera que durante el seguimiento de un paciente, los cambios en los resultados obtenidos se deban a variaciones en el estado fisiopatológico del mismo de manera exclusiva. Esto es conocido como valor de referencia para el cambio (o *reference change value*,

RCV), y es un concepto ampliamente utilizado en los laboratorios de análisis clínicos⁽¹⁴⁾.

Conclusiones

Las posibilidades que nos brinda la automatización han permitido mejorar la fiabilidad de los métodos, la rapidez en la obtención de los resultados, la bioseguridad del operador, y todo con un costo razonable. El uso de equipamiento que esté correctamente controlado y calibrado será una herramienta de gran utilidad para el estudio de pacientes con anemia.

Actualmente, los equipos automatizados cuentan con lector de código de barra incorporado que permite garantizar la identidad de la muestra y la trazabilidad de los resultados. A su vez, cuentan con conexión al sistema informático del laboratorio (LIS), lo cual permite el pasaje automático de resultados y la minimización de errores en este proceso.

Resuelto el aspecto operativo de la muestra en estudio de un paciente con sospecha de anemia, el paso siguiente será la interpretación correcta de resultados por parte del médico. Y para esto, el bioquímico será el responsable de traducir la información proveniente del equipo, facilitando la interpretación médica, de modo que tenga utilidad clínica. Es fundamental la buena comunicación entre profesionales que integran un equipo de salud, de manera tal que puedan complementarse en información en pos del beneficio del paciente en cuestión.

La anemia es un problema de salud mundial. Si no se trabaja en el objetivo de reducirla, millones de mujeres seguirán sufriendo una merma de su salud y calidad de vida, generaciones enteras de niños se verán afectadas en su desarrollo y aprendizaje, y comunidades y naciones presentarán una menor productividad y desarrollo económicos.

La aplicación de las intervenciones contempladas en la prevención y control de la anemia permitirá recuperar las concentraciones adecuadas de hemoglobina en los individuos y reducir la prevalencia de anemia en la población. El éxito en la reducción de la prevalencia de anemia en las mujeres en edad fértil mejorará el desempeño escolar de los niños y la productividad laboral de las mujeres, así como los resultados del embarazo para madres y neonatos, lo que supondrá beneficios intergeneracionales para la salud, bienestar y potencial económico de las personas y para el desarrollo de las comunidades.

Declaración de conflictos de interés:

La autora declara que no posee conflictos de interés.

Bibliografía

1. Organización Mundial de la Salud. Concentraciones de hemoglobina para diagnosticar la anemia y evaluar su gravedad. Ginebra, 2011.
2. Organización Mundial de la Salud. Metas mundiales de nutrición 2025: documento normativo sobre anemia. Ginebra, 2017.
3. Cappellini M D and Motta I. Anemia in Clinical Practice—Definition and Classification: Does Hemoglobin Change With Aging? *Semin Hematol.* 2015; 52:261-269.
4. CLSI Dubrowny et al. Tubes and additives for venous blood specimen collection; Approved standard-sixth edition: 30 (26) H1-A6, 2010.
5. Dacie and Lewis. Basic haematological techniques. *Practical Haematology*. Eleventh Edition, 2011, p 23-51. Elsevier, China.
6. Larregina A, Reimer E, Suldrup N. Diagnóstico diferencial de anemias microcíticas. *Acta Bioquím Clín Latinoam.* 2004; 38 (4): 465-9.
7. Fink N y col. Automatización en hematología. *Hematología.* 2005; Vol. 9 N° 1: 4-16.
8. Salaberría J, Martínez A, Calderín O. Diferencia entre valores de hemoglobina determinada en sangre capilar y venosa. *Rev Cub Ped.* 58(2): 175-179, marzo-abril 1986.
9. Vives y Aguilar. Técnicas de laboratorio en Hematología. 2da edición, 1997, p 53-55. Masson, España.
10. Maydana L, Recondo C, Grassi C y col. Interferencia en la determinación del hematocrito en pacientes con hiponatremia. COREBIO, Congreso Argentino de Residentes de Bioquímica, ciudad autónoma de Buenos Aires 2010.
11. Nilda F, Fernandez Alberti A, Mazziotta D. Evaluación externa de la calidad en hematología: una necesidad en América Latina. *Rev Panam Salud.* 1997, 2 (3).
12. Buttarello M. Quality specification in haematology. *Clinica Chimica Acta.* 2004; 346: 45-54.
13. Carbia C, Fink N, Lazarowski A. Informe automatización del hemograma: entre la ayuda, la confusión y la controversia. XIX Congreso Argentino de Hematología, 2009.
14. Maydana L, Recondo C, Grassi C y col. Interpretación de resultados de laboratorio en el monitoreo de pacientes. SAH, Congreso Argentino de Hematología, Mar del Plata, 2009.
15. International Society for Laboratory Hematology [Internet]. Disponible en: www.islh.org [accesible desde 22.01.14].
16. Comar S, Malvezzi M, Pasquini R. Are the review criteria for automated complete blood counts of the International Society of Laboratory Hematology suitable for all hematology laboratories? *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2014; 36(3): 219-225.