

EXPERIENCIA EN INTERCOMPARACIÓN DE PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS EMPLEANDO SANGRE FRESCA

Alfredo Gallardo¹, Alejandro Márquez², Georget Pastore², Luisa Elena Fernández³

RESUMEN: Se practicó una dinámica de evaluación externa experimental en hematología, empleando sangre fresca sin preservantes. Fue corroborada su homogeneidad y bioseguridad, transportada en cadena de frío a 33 laboratorios clínicos del Área Metropolitana de Caracas y establecidos los valores de referencia en el laboratorio organizador. Los coeficientes de variación encontrados fueron para hemoglobina (Hb) 5,1 %, hematocrito (Hto) 5,4 %, recuento de glóbulos blancos (GB) 8,7 %, recuento de glóbulos rojos (GR) 4,3 %, recuento de plaquetas (PLQ) 8,0 %, VCM 3,2 %, CHCM 4,2 % y HCM 4,2 %, considerados satisfactorios. Los Índices de Desviación (ID) obtenidos fueron satisfactorios (ID<2,0) en un 97,0 % para GB, 90,9 % Hb, 66,7 % PLQ, 63,6 % GR, 48,5 % Hto, 27,2 % VCM; e inaceptables (ID>2,0) en un 81,8 % para CHCM y 93,9 % para HCM, posiblemente ligado a problemas de calibración de los instrumentos. La sangre fresca constituye una alternativa práctica y económica que puede impulsar la realización de programas de intercomparación a nivel local.

Palabras clave: Intercomparación, Evaluación externa, Parámetros hematológicos, Sangre fresca, Control de calidad.

ABSTRACT: A dynamics of experimental external evaluation in hematology was carried out, employing fresh blood without preservatives. It was corroborated its homogeneity and biosafety, it was transported in chain of cold to the 33 participating clinical laboratories and established the reference values in our laboratory. The coefficient of variation found were: 5.1 % Hemoglobin (HB), 5.4 % haematocrit (HTO), 8.7 % white blood cells (WBC), 4.2 % red blood cells (RBC), 8.0 % platelets (PLT), 3.2 % MCV, 4.2 % MCHC and 4.3 % MHC, all considered satisfactory. The deviation index (DI) obtained were: satisfactory (DI<2.0) 97.0 % WBC, 90.9 % HB, 66.7 % PLT, 63.6 % RBC, 48.5 % HTO, 27.2 % MCV; unsatisfactory (DI>2.0) 81.8 % MCHC and 93.9 % MHC, this probably related to calibration problems of the instruments. Fresh blood constitutes a practical and economic alternative that can impulse the realization of intercomparison programs at local level.

Key words: Intercomparison, External evaluation, Hematology tests, Fresh blood sample, Quality control.

INTRODUCCIÓN

Los “Programas de Garantía de la Calidad” pretenden establecer un método para asegurar la calidad de los resultados de los análisis del laboratorio clínico, desde que estos son solicitados hasta su informe, mediante la

identificación y prevención de los posibles errores que puedan ser cometidos en el laboratorio. Para lograrlo se requiere de un sistema de control de calidad interno complementado por un sistema de evaluación externa. La evaluación externa de la calidad consiste en una evaluación objetiva del desempeño de un número de laboratorios participantes, realizada por una agencia externa a través del suministro de un material especialmente diseñado para este propósito. El desempeño constituye un análisis retrospectivo del participante, en aras de lograr la comparabilidad y la armonización interlaboratorio^(1,2).

1 Profesor Asistente, Cátedra de Hematología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, UCV.

2 Bioanalista, Egresado de la Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, UCV.

3 Profesor Asistente, Cátedra de Hematología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, UCV.

Fuente de ayuda económica

Decanato de la Facultad de Medicina, UCV; Repreclinlab CA.

Recibido: 14-11-06

Aceptado: 30-01-07

Venezuela carece de sistemas apropiados de evaluación externa de la calidad en hematología. Diversas evaluaciones interlaboratorios realizadas entre los años de 1988 al 2000, empleando controles comerciales demostraron deficiencias en la dosificación de hemoglobina, debidas a la falta de estandarización en los procesos de calibración y control de los instrumentos^(3,4). Sin embargo, no fue posible evaluar de manera eficiente aquellos participantes que empleaban instrumentos con tecnología óptica de medición para recuentos celulares, debido a que los estabilizadores empleados en la preparación de los controles comerciales alteran la capacidad de deformación de las células sanguíneas y por ende una valoración eficiente de este parámetro⁽⁵⁻⁸⁾.

El propósito de este trabajo fue evaluar los parámetros que conforman la hematología completa, a través del empleo de un material de evaluación ideal, la sangre fresca, que carece de aditivos para su preservación y su comportamiento ante diferentes instrumentos y tecnologías de medición es absolutamente comparable⁽⁸⁻¹¹⁾.

MÉTODO

El material de evaluación lo constituyeron muestras de sangre fresca, obtenida por venopunción antebraquial en tubos al vacío K3EDTA de 3 mL de capacidad (Beckton and Dickinson) a un solo individuo aparentemente sano, al que se le extrajeron un total de 40 tubos en 10 minutos. El control de bioseguridad del material de evaluación se realizó previamente mediante serología de HbsAg, VHC y VIH tipo I y II al donante, las cuales resultaron negativo. La homogeneidad fue corroborada mediante 15 determinaciones al primer y último tubo extraídos al donante, no encontrándose diferencia significativa entre los parámetros directamente medidos por el autoanalizador hematológico empleado (ANOVA $P > 0,05$).

La estabilidad fue controlada mediante: la obtención y embalaje en menos de 45 minutos del ítem de ensayo, almacenamiento a 4° C (en cavas con hielo), distribución mediante un sistema rápido y efectivo (en menos de 1 hora), y procesamiento de la sangre por el participante antes de las 4 horas desde el momento de su obtención (verificado por registro de hora de procesamiento por el participante), tiempo en el cual no existe una alteración significativa de los parámetros a evaluar⁽¹²⁾.

El material de evaluación fue embalado en un sistema de triple empaque, junto con las instrucciones de manejo. Cada participante procesó por triplicado el material de evaluación en el instrumento de rutina empleado en la

institución, con la finalidad de obtener la media de estas determinaciones. El envío del material de evaluación y retorno de los resultados se realizó mediante un servicio de mensajería expresa motorizada, especializada en el transporte de material biológico. Se elaboró y entregó un informe final personalizado a cada laboratorio participante, en el cual se le indicó el desempeño obtenido en la intercomparación.

Los parámetros evaluados fueron hemoglobina (Hb), hematocrito (Hto), recuento de glóbulos blancos (GB), recuento de glóbulos rojos (GR), recuento de plaquetas (PLQ) y los índices hematimétricos volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM) y concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM). Para la evaluación de los participantes se obtuvo el coeficiente de variación (CV), como medida de desempeño global de los resultados. El desempeño individual se obtuvo por comparación de los resultados individuales con los resultados establecidos de referencia, a través de la obtención del Índice de Desviación (ID), a partir de la fórmula $ID = (\text{media Participante} - \text{media Referencia}) / \text{desviación estándar de la referencia}$. El ID es una medida de cuánto difieren los resultados del participante con respecto al valor de referencia, expresado como un múltiplo de la desviación estándar^(1,13). Para el análisis de datos se utilizó el programa Excel Microsoft Office 2000.

El valor de referencia fue definido mediante el empleo de un instrumento Coulter Act diff (Beckman Coulter), apropiadamente calibrado (Coulter S-Cal) y controlado tanto internamente (Coulter 4CES), como externamente, por participación con desempeños aceptables (en Hb, #GB y PLQ) para el período de estudio según participación en el Programa Internacional de Evaluación Externa de la Calidad en Hematología (IEQAS-H, por sus siglas en inglés), patrocinado por la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Se invitó a 56 laboratorios del Área Metropolitana de Caracas y 38 confirmaron su participación (67,9 %), 18 laboratorios públicos y 20 del sector privado, los cuales fueron codificados para preservar su confidencialidad, y agrupados en siete zonas geográficas, para realizar una distribución eficiente del material de evaluación en febrero de 2004.

RESULTADOS

La respuesta a la dinámica de evaluación fue del 89,0 % (33 laboratorios). Los autoanalizadores hema-

tológicos empleados por los participantes se muestran en la Tabla 1, de esta destaca que el 97,0 % cuenta con instrumentos basados en el principio de impedancia para realizar los recuentos celulares. Los CV obtenidos fueron los siguientes: Hb 5,1 %, Hto 5,4 %, GB 8,7 %, GR 4,3 %, PLQ 8,0 %, VCM 3,2 %, CHCM 4,2 % y HCM 4,2 %. La Tabla 2 resume los ID obtenidos para cada parámetro, categorizado según la OMS⁽¹³⁾.

Los ID obtenidos son de nivel satisfactorios o mejores ($ID \leq 2,0$) en un 97,0 % para GB, 90,9 % para Hb, 66,7 % para PLQ, 63,6 % para GR, 48,5 % para Hto y 27,2 % VCM. Sin embargo, se encontró un desempeño insatisfactorio e inaceptable ($ID > 2,0$) en un 81,8 % para CHCM y 93,9 % para HCM, con ID medio de -6.2 (desviación estándar (ds) 4,6) y -11.0 (ds 12,2) respectivamente.

Tabla 1
Autoanalizadores hematológicos empleados por los participantes

Fabricante	Modelo	Nº
Abbott Laboratories	Cell Dyn 1700	1
	Cell Dyn 3200	6
	Cell Dyn 4000	1*
ABX Diagnostic	Pentra 60	1
Bayer Diagnostic	ADVIA 60	1
Beckman Coulter	AcT 6	1
	AcT-Diff	1
	GEN-S	1
	MAXM	2
	ONIX	2
	STKS	2
	T 880	1
T 890	4	
Medonic	CA 530	1
Roche Diagnostic	Covas Minos	2
Sysmex Corporation	SE-9500	1
	K-800	1

* Emplea el principio óptico para realizar los recuentos celulares.

Tabla 2
Desempeño de los participantes en porcentaje según categorización OMS (n = 33)

Nivel OMS	ID	GR	Hb	Hto	VCM	CHCM	HCM	PLQ	GB
Excelente	0 a 0,5	9,1 %	33,3 %	9,1 %	3,0 %	3,0 %	3,0 %	30,3 %	33,3 %
Muy bueno	0,5 a 1,0	21,2 %	24,2 %	3,0 %	3,0 %	3,0 %	3,0 %	15,2 %	39,4 %
Satisfactorio	1,0 a 2,0	33,3 %	33,3 %	36,4 %	21,2 %	12,1 %	0,0 %	21,2 %	24,2 %
Mediocre	2,0 a 3,0	18,2 %	3,0 %	36,4 %	3,0 %	3,0 %	3,0 %	18,2 %	0,0 %
Insatisfactorio	3,0 a 4,0	15,2 %	0,0 %	12,1 %	3,1 %	6,1 %	3,0 %	12,1 %	0,0 %
Inaceptable	> 4,0	3,0 %	6,1 %	33,3 %	72,1 %	72,7 %	87,9 %	3,0 %	3,0 %

ID: Índice de desviación

DISCUSIÓN

La negativa en la participación por parte de algunos de los laboratorios clínicos invitados, evidenció la falta de comprensión hacia la función y utilidad de los programas de intercomparación dentro de estas instituciones. Este tipo de dinámicas de evaluación pone de manifiesto el desempeño de cada participante, el cual le es útil como mecanismo de control externo. Además promueven la armonización de los resultados de los laboratorios, al alinear los resultados de los participantes a los de un

centro de referencia, que debería estar trazado a los estándares internacionales^(1,13,14).

La respuesta de los participantes fue alta (89,0 %) debido al estricto seguimiento que se le practicó al material de evaluación. La utilización de muestras de sangre fresca obtenida con EDTA como material de evaluación es una alternativa práctica y económica para la realización de programas de intercomparación de laboratorios clínicos, que permite una evaluación eficiente de los instrumentos

hematológicos sin importar el principio utilizado⁽⁸⁻¹¹⁾. Sin embargo, el volumen de muestra que puede ser obtenida a un paciente limita el número de participantes, y la restringida vida útil de éste circunscribe el alcance del programa a laboratorios cercanos al centro organizador. La estabilidad del material de evaluación fue asegurada mediante una estricta cadena de frío y rápido procesamiento desde su obtención hasta su procesamiento por los participantes (en menos de cuatro horas), lo que permitió una evaluación eficiente del desempeño los participantes.

El CV para cada parámetro es un reflejo de la comparabilidad de los resultados entre los participantes y constituyen una evidencia de la armonización de los resultados de estos. Los CV encontrados para los parámetros evaluados resultan satisfactorios, al ser comparados con los reportados en otros estudios (Tabla 3)^(1,13). Estos resultados probablemente estén relacionados con el uso de sangre fresca como material de evaluación, el cual es totalmente comparable entre los diferentes instrumentos, al relativamente bajo número de participantes y al empleo de la media de tres determinaciones del material de evaluación.

Un estimador de la exactitud de las mediciones de los parámetros para cada participante es dado por el ID, ya que compara el resultado del participante frente a valor de referencia, convencionalmente aceptado como verdadero, razón por la cual ID también es un estimador de los procesos de calibración de los instrumentos y por ende de la trazabilidad de los resultados arrojados por estos. Los ID fueron en gran proporción satisfactorios para GB y Hb,

este último evidencia una mejora en su dosificación al ser comparados con un estudio realizado en el año 2000, en el que el 46,7 % de los participantes obtuvieron un ID insatisfactorio (>3,0) para este parámetro⁽⁴⁾.

Los ID de GR y PLQ resultaron ser medianamente satisfactorios, y críticos para Hto e índices hematimétricos. La sobreestimación del VCM y Hto, y la subestimación del CHCM y HCM posiblemente están ligados a problemas en los procedimientos de calibración de los instrumentos. Sin embargo, los ID obtenidos para Hto, CHCM y HCM son de menor confiabilidad en comparación con otros parámetros, debido a que estos son calculados a partir de la Hb, #GR y del VCM, en todos los instrumentos hematológicos empleados por los participantes.

La entrega de un informe final a cada participante, que incluyó los resultados obtenidos por éste, constituye una evidencia de su desempeño y es una herramienta que le permite tomar acciones correctivas en caso de ser necesario, en aras de lograr la armonización de los resultados emitidos, el cual es la intención de toda dinámica de evaluación. Razón por la cual se recomienda la creación e impulso de programas de intercomparación o cualquier otro mecanismo de evaluación externa, no sólo en el Área Metropolitana Caracas, sino en todo nuestro país.

Agradecimiento

A REPRECLINLAB CA, representante de Beckman-Coulter en Venezuela, por facilitarnos el instrumento Coulter Act diff empleado en este estudio.

Tabla 3
Comparación de los coeficientes de variación obtenidos con los reportados en otros estudios

Parámetro	Obtenido de participantes	Recomendado (1)	Observado en diversas Evaluaciones externas (13)
Hb	5,1 %	< 5,0 %	3,2 %
Hto	5,4 %		5,0 %
VCM	3,2 %		5,0 %
GR	4,3 %		4,0 %
GB	8,7 %	< 10,0 %	9,0 - 10,0 %
PLQ	8,0 %	< 25,0 %	20,0 - 25,0 %

REFERENCIAS

1. Lewis SM. The WHO International External Quality Assessment Scheme for Haematology. *Bull WHO*. 1988;66(3):283-290.
2. World Health Organization. External quality assessment of health laboratories: EURO reports and studies 36. Copenhagen, WHO Regional Office, 1981.
3. López A. Garantía de Calidad Hematológica. Trabajo de Ascenso al escalafón de Agregado, Universidad Central de Venezuela, 1994.
4. López, A. Plataforma para implementación del Programa de evaluación externa de la calidad hematológica. Trabajo de Ascenso al escalafón de Asociado, Universidad Central de Venezuela, 2001.
5. Lewis SM. Quality assurance programs in the United Kingdom. *Ann Ist Super Sanita*. 1995;31(1):53-59.
6. Lewis SM. EQA for general haematology in the United Kingdom. *Ann Ist Super Sanita* 1995;31(1):71-75.
7. Heller S. External quality assessment scheme for haematology in Germany. *Ann Ist Super Sanita*. 1995;31(1):87-93.
8. Carandina G. EQA pilot regional program for haematology in Emilia-Romagna, Italy. *Ann Ist Super Sanita*. 1995;31(1):211-215.
9. Hackney JR, Cembrowski GS. The use of retained patient specimens for haematology quality control. *Clin Lab Haematol*. 1990;12(1):83-89.
10. Van Gend JM. Fresh human blood as the source of a regional quality survey programme in haematology. *Ann Clin Biochem*. 1982;19(6):438-441.
11. Xiaobo H, Yong L, Daming J, Lei X, Ying S, Jinfeng Z. External quality assessment of automated hematology analyzer performance using fresh human blood samples in Shanghai. *Lab Hematol*. 2002;9:175-178.
12. International Council for Standardization in Haematology (ICSH). Recommendations of the International Council for Standardization in Haematology for Ethylenediaminetetraacetic Acid Anticoagulation of Blood for Blood Cell Counting and Sizing. International Council for Standardization in Haematology: Expert Panel on Cytometry. *Am J Clin Pathol*. 1993;100(4):371-372.
13. Deom A, El Aouad R, Heuck CC, Kumari S, Lewis SM, Uldall A, Wardle J. Requirements and guidance for external quality assessment schemes for health laboratories. World Health Organization, Geneva; 1999.
14. Carter JY, Lema OE, Adhiambo CG, Materu SF. Developing external quality assessment programs for primary health: Care level in resource limited countries. *Accred Qual Assur*. 2002;7:345-350.

Autor responsable: Alfredo Gallardo
Cátedra de Hematología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, UCV.
Teléfono: 0212-6053510
E-mail: gallarda@ucv.ve