

Programa de evaluación de la calidad entre laboratorios XIV. Un año de evaluación en Citometría Hemática

*Sergio Ignacio Alva Estrada, **Ernestina Chapa Garza, *Lilia Mireya Fuentes Mancilla,
Jonás Cabello Reyes, ***Laura A. Montiel Cervantes

Abstract

An external quality assessment program in haematology was introduced in 1995 to initiate the Evaluation of Quality among Laboratories (PECEL). In a former study, the biological material used was stabilized human blood, prepared according to the standard procedure recommended by World Health Organization. Nevertheless, the samples were not as reliable as expected, since the cells changed their morphology under the transport conditions. In this work only the quality evaluation of blood used in smears on glass slides for differential counts is reported.

To each participant laboratory samples were provided twelve times along the year. They consisted of blood smears from clinically healthy donors. The laboratories stained the samples and they reported the results of differential counts.

It was established a Variance Index Score (VIS), using a variation coefficient (AVC), which varied when the consense values were less than 2.5 and constant when the figures were higher.

The results show a clear trend to the decrease of the mean VIS in every haematological component and in the whole, it was higher for linfocytes and segmented cells. These results suggested that there has been real progress in the ability to identify and discriminate the normal leucocytes.

* Profesores investigadores del Departamento de Bioquímica, ENCB-IPN; becarios de COFAA y del Programa de Estímulo al Desempeño Docente.

** Profesora investigadora, Carrera de Técnico Laboratorista Clínico, CECyT "Miguel Othón de Mendizábal" IPN; becaria de COFAA y del Programa de Estímulo al Desempeño Docente.

*** Laboratorio de Hematología Especializada, Hospital de Especialidades del Centro Médico La Raza, IMSS.

Correspondencia a: Dr. en C. Sergio Ignacio Alva Estrada. Laboratorio de Bioquímica Clínica, Departamento de Bioquímica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Carpio y Plan de Ayala. Colonia Santo Tomás. 11340 México, D.F.

As to the granulocytes counts, the mean VIS from the last six cycles, is below the 100 points, while for the mononuclear cells, the values are above.

Keywords. Stabilized human blood. Morphology. WHO. CAP.

Resumen

En el primer estudio de la calidad en la sección de Hematología se utilizó sangre humana estabilizada, preparada según la técnica propuesta por la OMS. Sin embargo, la morfología celular no resistió las condiciones del transporte de las muestras. En este artículo se presentan únicamente los resultados de la evaluación de la calidad, en la cuenta diferencial, utilizando extendidos de sangre.

En doce ocasiones se proporcionó a cada participante, un frote de sangre periférica, recién extraída de donadores sanos. Los participantes tiñeron la laminilla, realizaron una cuenta diferencial, e informaron los resultados a los organizadores.

Para la evaluación de la calidad, se establece una puntuación del índice de varianza (PIV), utilizando un coeficiente de variación seleccionado (CVS) variable cuando los valores de consenso son menores de 2.5, y un CVS fijo para cifras mayores.

Los resultados muestran una clara tendencia hacia la disminución del promedio del PIV, en todos los componentes hematológicos y en el conjunto, siendo mayor para los linfocitos y los segmentados. Esto sugiere que ha habido progreso en la capacidad para identificar y distinguir las células blancas normales.

Para los granulocitos el promedio del PIV, de los últimos seis ciclos, es inferior a 100 puntos. Para los mononucleares aún permanece por arriba de esa cifra. Esto coincide con las experiencias del CAP, que señalan que es común la dificultad para distinguir los linfocitos de los monocitos.

Palabras clave. *Sangre estabilizada. OMS. Cuenta diferencial. CAP.*

Introducción

En octubre de 1995 se incorporó la sección de Hematología dentro del Programa de Evaluación de la Calidad Entre Laboratorios. Los primeros resultados informados⁽¹⁾ sugirieron que hay deficiencias en la calidad de esta área e hicieron evidente la necesidad de atender con urgencia este problema.

Dicha experiencia no es extraña, ya que lo mismo sucedió en programas interlaboratorios de otros países,⁽²⁻³⁾ como en los Estados Unidos.⁽²⁾ Lo único lamentable es que recorramos el mismo camino muchos años después, sin embargo, estamos convencidos que es el camino correcto para mejorar la calidad.

En el programa interlaboratorios del Colegio de Patólogos Americanos (CAP),⁽²⁾ se ha evaluado la calidad de la cuenta diferencial con extendidos de sangre periférica y la correcta identificación de las células con diapositivas. Su experiencia es que en la identificación de las células blancas existen tres grados de complejidad: En el nivel básico, deben distinguirse claramente los mononucleares de los polimorfonucleares. En el intermedio los linfocitos deben distinguirse de los monocitos, y los neutrófilos de los eosinófilos y basófilos. En el nivel sofisticado deben distinguirse los linfocitos normales de los reactivos, y en los polimorfonucleares distinguirse los segmentados de las bandas.

Con esos criterios, el CAP ha encontrado que la identificación de las células normales es aceptable en un alto porcentaje de los participantes, sin embargo, en el nivel intermedio hay deficiencias en la identificación de linfocitos y monocitos, aún utilizando transparencias, en las que se suprime la variabilidad debida a la selección de campo para la lectura, y en el nivel sofisticado han encontrado muchos problemas, con gran confusión entre los linfocitos normales y reactivos, así como entre neutrófilos segmentados y bandas.

Para fomentar la mejoría de la calidad en esta área, la Organización Mundial de la Salud,⁽⁴⁾ a través del Centro de Colaboración para la Garantía de la Calidad en Hematología, ha publicado una serie de recomendaciones, entre las que sobresalen las que a continuación se resumen.

Los procedimientos que debe incluir un programa de control de calidad en hematología, pueden variar con el tipo de pruebas, el equipo utilizado, el tamaño del laboratorio y el nivel de entrenamiento del personal. Sin embargo, debe realizarse continuamente y con las siguientes acciones periódicas.

En todo momento debe correlacionarse: a) todos los resultados de un mismo paciente; b) las observaciones de

la laminilla con los conteos celulares; c) los cambios en las cuentas celulares con los eventos clínicos.

Diariamente: a) deben introducirse controles en cada lote de muestras problema; b) revisar cartas control; c) por cada lote de muestras de pacientes, analizar por duplicado algunas de ellas (4-5 por lote); d) incluir en cada lote de muestras, algunas del lote anterior (4-5 por lote).

A intervalos diarios o semanales, se debe verificar la calibración de los contadores automáticos de células rojas, utilizando sangre preservada o una preparación estabilizada de células; para las células blancas se puede utilizar sangre de humano o de ave, estabilizada.

Mensual o trimestralmente se debe: a) participar en programas externos de evaluación de la calidad; b) verificar la calibración de las pipetas y los dilutores automáticos.

Material y Métodos

En el primer artículo de la sección de Hematología se informó que para la evaluación se utilizó como material problema sangre periférica humana estabilizada, preparada según la técnica de conservación propuesta por la Organización Mundial de la Salud.⁽⁴⁾ Sin embargo, la experiencia basada en las observaciones de varios participantes señaló que la sangre no resistió las condiciones de envío, ya que la morfología celular presentaba alteraciones.

Debido a la dificultad señalada, en este artículo se presentan únicamente los resultados de la evaluación de la calidad, en la cuenta diferencial, utilizando extendidos de sangre.

En doce ocasiones (ciclos) se proporcionó a cada participante, un frote preparado con la técnica de los dos cubreobjetos,⁽⁵⁾ aunque empleando dos portaobjetos. Se utilizó sangre periférica recién extraída de donadores sanos, recibida en tubos al vacío con EDTA. Las laminillas se fijaron con metanol y se envió una a cada participante, la tiñeron conforme a su método habitual, determinaron el porcentaje de cada leucocito, e informaron los resultados a los organizadores.

Para evaluar la exactitud de la medición de cada componente hematológico, se estableció la media aritmética de consenso, que fue considerada como el valor real. Para lo cual, se calculó una primera media de todos los resultados recibidos, y se excluyeron los resultados que se salían del intervalo del 20% al 200% de la misma. Con los valores incluidos en ese intervalo se calculó una segunda media y su desviación estándar, excluyendo ahora, los que se salieron del intervalo de la media más menos una vez la desviación estándar. Con los datos restantes se calculó la media de consenso.

Tabla 1. Promedio del PIV, obtenido por el conjunto de los laboratorios participantes

Ciclo	n	Linfocitos	Monocitos	Segmentados	Bandas	Eosinófilos	Basófilos	Promedio
9510	221	251	152	245	121	116	21	151
9511	260	169	137	150	116	84	33	115
9512	231	181	127	160	112	105	29	119
9601	205	173	164	139	150	136	30	132
9602	253	184	144	103	98	108	28	110
9603	205	151	204	64	97	74	21	101
9604	172	107	117	75	82	60	54	83
9605	220	139	137	76	84	60	39	89
9606	215	140	178	103	96	68	42	98
9607	195	117	129	68	88	57	33	78
9608	212	96	136	78	84	72	54	83
9609	188	116	121	80	69	68	23	82

Por comparación de cada valor observado contra la media de consenso se calculó el porcentaje de error, de manera habitual⁽⁶⁻¹⁰⁾ y con ese resultado se estableció la puntuación del índice de varianza (PIV). Este cálculo se realiza dividiendo el porcentaje de error entre el coeficiente de variación seleccionado (CVS o porcentaje de error aceptable) y multiplicando por cien.

Como se ha descrito previamente,⁽⁶⁻¹⁰⁾ la escala del PIV es igual para todos los componentes y su intervalo es de 0 a 400 puntos, siendo ideal el valor de "0", aceptable por abajo de 100 e inaceptable por arriba de esa cifra.

Los coeficientes de variación seleccionados fueron: linfocitos (10%); monocitos (35%); segmentados (10%); bandas (40%); eosinófilos (40%) y basófilos (40%). Sin embargo, cuando la media de consenso fue menor de la cifra de 2.5, se utilizó un CVS variable que fue calculado para que en una diferencia de una célula, contra el valor de consenso, el valor del PIV fuera de cien

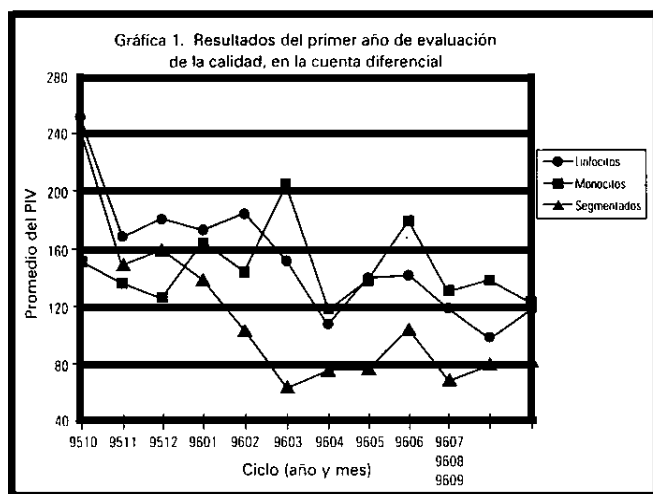
puntos, este CVS se obtiene dividiendo 100 entre el valor de consenso.

Resultados

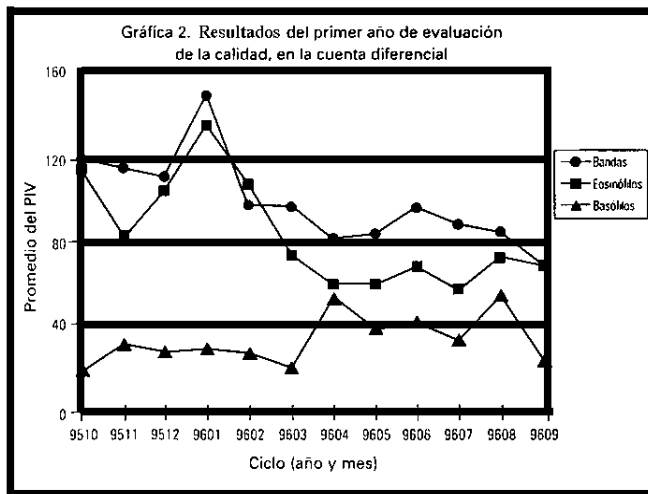
En la tabla 1 se presentan los promedios del PIV, obtenidos por el conjunto de laboratorios participantes, para cada componentes hematológico, en cada uno de los ciclos de evaluación. Para facilitar el análisis de la información, los mismos datos se presentan en las gráficas de la 1 a la 3.

Discusión y conclusiones

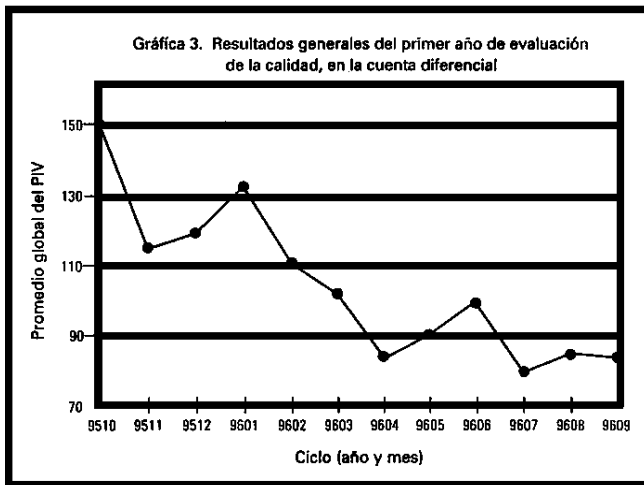
En la tabla 1 se aprecia que el número de participantes ha disminuido; la razón de esto es que la participación en programas externos de evaluación, aún sigue siendo voluntaria en México y la mala situación económica del país ha provocado la deserción de los participantes, ya



Gráfica 1.



Gráfica 2.



Gráfica 3.

que para participar deben cubrir una cuota de recuperación.

Por otro lado, en la misma tabla y mejor en las gráficas 1 y 2, se aprecia una clara tendencia hacia la disminución del promedio del PIV, en todas las células blancas, excepto en los basófilos, en los cuales el PIV se ha mantenido dentro de límites aceptables.

De las diferencias gráficas, resalta la pendiente de las correspondientes a los linfocitos y a los segmentados, que son más pronunciadas. La de estos últimos sugiere que ha habido progreso en la capacidad para identificar dichas células y para distinguirlas de las células en banda y de los eosinófilos, cuya pendiente también señala una mejoría.

En la tabla 1 también se aprecia, que para los granulocitos el promedio del PIV de los últimos seis ciclos, es inferior a 100 puntos, mientras que en los mononucleares aún está por arriba de esa cifra. Esto coincide con las experiencias del CAP, que señalan que es común la dificultad para distinguir los linfocitos grandes de los monocitos pequeños.

Como resultado de la mejoría de la calidad en la identificación de las diferentes células blancas, el promedio global del PIV (gráfica 3), presenta una tendencia pronunciada a disminuir.

Es pertinente señalar que la mejoría obtenida, es resultado del esfuerzo, tanto de los organizadores del

programa como de los participantes. Los primeros han organizado sesiones de discusión de resultados, además de proporcionar resúmenes, esquemas y sugerencias para identificar mejor las células; los segundos se han preocupado por estudiar la morfología, consultar atlas e intercambiar opiniones y experiencias con sus compañeros.

Agradecimientos

Agradecemos al Sr. Oscar Siordia y al Dr. Armando Gameros, representantes de Becton-Dickinson de México, la donación de material para la realización de este trabajo desde su inicio.

Referencias

1. Chapa-Garza E, Fuentes-Mancilla LM, Cabañas-Cortés EM, Lara-Uc M, Cabello-Reyes J, y Alva-Estrada SI: Programa de evaluación de la calidad entre laboratorios. XIII Evaluación externa de la calidad en hematología. LABORAT-acta 1995; 7:107-11.
2. De Leenheer, AP, y Thienpont, LMR. External quality assessment of laboratory performance in haematology in Belgium: Analysis of two and half years. Clinica Chemica 144:95-103. Elsevier science publishers 1984; B.V. C.C.A. 03024.
3. Koepke, JA; A delineation of performance criteria for the differentiation of leucocytes. Am J Clin Pathol 1977; 68:202-6.
4. Lewis, SM; Quality assurance in haematology. World Health Organization. Lab 1992; 4:1-89.
5. Williams, WJ; Hematología. Tomo II. Salvat Editores SA. 2a. Edición; 1983; 1683-5.
6. Alva-Estrada SI, Benito-Mercadé MC, Bautista-González J, Fuentes-Mancilla LM, Salcedo-Romero R y Gómez ML; (1992a). Programa de evaluación de la calidad entre laboratorios. IV Resultados del año 1991. LABORAT-acta 4:31-41.
7. Alva-Estrada SI, Cabañas-Cortés EM, Curiel-López P y Valles de BV (1992b). Programa de evaluación de la calidad entre laboratorios. V El estado del arte y la calidad analítica. LABORAT-acta 4:115-20.
8. Alva-Estrada SI, Curiel-López P, Cabañas-Cortés EM, Fuentes-Mancilla LM, González-Salayandía MA, y Valles de BV (1992c). Programa de evaluación de la calidad entre laboratorios. VI Análisis de los progresos observados. LABORAT-acta 4:156-62.
9. Alva-Estrada, SI, Valles de BV Ortíz-Paz AL, Lara-Uc M, y Fuentes-Mancilla LM, (1994a). Programa de evaluación de la calidad entre laboratorios. IX Estudio de la calidad analítica con dos sueros distintos. LABORAT-acta 6:29-32.
10. Alva-Estrada SI, Fuentes-Mancilla LM, Valles de BV, Romero-Camarena A, Lara-Uc M, y Oliva-Arana AO (1994b). Programa de evaluación de la calidad entre laboratorios. XI Resultados de cuatro años. LABORAT-acta 6:131-7.