

ARTÍCULO ORIGINAL

Evaluación de la tasa de revisión manual del frotis de sangre periférica en pacientes pediátricos.

Osta, V.; Guiñazú, K.; Ayuso, C.

Laboratorio Central, Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez, CABA, Argentina.

Teléfono/Fax: 54-11-49626770

Contacto: Osta, V.; viviosta@yahoo.com.ar

Resumen

Los contadores hematológicos proveen recuentos celulares, histogramas y alarmas con exactitud y precisión, sin embargo la observación del frotis sanguíneo sigue siendo imprescindible para identificar patologías hematológicas específicas. Cada laboratorio debe establecer la tasa de revisión del frotis de sangre periférica que considera aceptable teniendo en cuenta las características poblacionales, asegurando calidad en los resultados. La Sociedad Internacional de Laboratorios de Hematología, a través del Grupo de Consenso Internacional para la Revisión en Hematología (ICGHR), recomienda la revisión manual del frotis según reglas basadas en las alarmas que informan los contadores hematológicos, para evitar revisiones innecesarias y minimizar aquellos casos en los que la no revisión del frotis puede conducir a que no se detecten anomalías de relevancia clínica. Estas reglas son indicativas, por lo cual cada laboratorio debe validarlas en su población. La finalidad de este trabajo fue verificar los criterios de revisión propuestos por el Grupo de Consenso para evaluar su aplicabilidad en pacientes pediátricos. Para ello, se analizaron 1000 reportes del recuento celular completo de pacientes pediátricos, obtenidos en el contador Beckman-Coulter LH750 y se registró la presencia de alguna de las reglas propuestas por el ICGHR. Se colorearon los frotis de todas las muestras y se realizó la revisión microscópica para verificar si las alteraciones detectadas por el analizador se correspondían con la microscopía. El resultado fue que de los 1000 reportes evaluados, el 64,7 % presentó al menos uno de los criterios de alarma propuestos. Se obtuvo 35,9 % de falsos positivos y 2,8 % de falsos negativos, estos últimos debido a: 46,4 % morfología eritrocitaria, 39,3 % morfología plaquetaria, 17,8 % desvío izquierdo y 17,8 % linfocitos atípicos. En algunas de estas muestras se detectó más de una alteración. Es por eso, que teniendo en cuenta que se obtuvo una tasa aceptable de falsos negativos (<5 %), se llegó a la conclusión de que las reglas propuestas por el Grupo de Consenso son aplicables en este laboratorio, pero considerando las características de la población estudiada, se recomienda realizar la revisión rápida del frotis de todas las muestras y en aquellas en las que se observen células inmaduras o atípicas, realizar el diferencial manual y la descripción minuciosa de la morfología de leucocitos, eritrocitos y plaquetas que puedan ayudar al diagnóstico de patologías hematológicas específicas.

Palabras clave: revisión del frotis, recuento diferencial leucocitario, alarmas, reglas de consenso.

Abstract

Haematology analyzers provide accurate and precise blood cell counts, histograms and flags. However, blood smear review is essential to identify certain pathologies. Each laboratory should establish the acceptable rate of revision considering the population characteristics to ensure quality results. The International Society of Laboratory Haematology through the International Consensus Group of Haematology Review (ICGHR) recommends smear manual review based on the reporting alarms to avoid unnecessary reviews and minimize those cases in which clinically significant abnormalities are not detected (false negatives). These rules are indicative that each laboratory should validate it for its population. Objective: The aim of the present study was to verify the review criteria proposed by the ICGHR to assess their applicability in paediatric patients. Methods: One thousand reports of complete blood cell count of paediatric patients obtained in a Beckman-Coulter LH750 counter were analyzed. Smears of all samples were stained and microscopic review was performed. We found that 64.7 % of the reports analyzed presented at least one of the criteria proposed by the ICGHR, 35.9 % were false positive, and the rate of false negative was 2.8 %: 46.4 % corresponded to erythrocyte morphology, 39.3 % to platelet morphology, 17.8 % to left shift and 17.8 % to atypical lymphocytes.

In some of these samples, more than one alteration was detected. Given that an acceptable rate of false negative (<5%) was obtained, we conclude that the rules proposed by the ICGHR are applicable in our laboratory. However, considering the characteristics of the study population, we recommend performing a quick review of all smear samples, especially those where immature or abnormal cells were found, performing manual differential count, and describing the morphology of leukocytes, erythrocytes and platelets in detail to help diagnose specific haematological diseases.

Key words: blood smear review, leukocyte differential count, flags, consensus rules.

Introducción

A pesar de que los contadores hematológicos actuales proveen recuentos celulares, histogramas y alarmas con un alto grado de exactitud y precisión¹, la observación del frotis de sangre periférica sigue siendo imprescindible en la identificación y caracterización de ciertas patologías, como por ejemplo las leucemias y las anemias hemolíticas. Existen, además, alteraciones morfológicas que los analizadores no pueden identificar como son la presencia de neutrófilos hipersegmentados, punteado basófilo, plaquetas gigantes y cuerpos de Howell-Jolly, entre otros, y que pueden contribuir a la presunción diagnóstica de algunas enfermedades². Por otra parte, la revisión del frotis de sangre periférica permite no sólo determinar la presencia de una determinada patología, sino que también puede conducir a la realización de un test reflejo complementario que ayude en el diagnóstico definitivo de la misma.

Cada laboratorio debe establecer qué tasa de revisión manual de los extendidos de sangre periférica considera aceptable, teniendo en cuenta las características de la población de pacientes que atiende y el desempeño del analizador utilizado, asegurando, al mismo tiempo, la calidad de los resultados y como consecuencia la seguridad del paciente.

Las tasas de revisión manual del frotis reportadas por diferentes centros son muy variables. En un estudio realizado por el Colegio Americano de Patólogos (CAP) en el año 2006 sobre 95141 reportes de recuentos de células sanguíneas (CBC) provenientes de 263 laboratorios de 45 países, se encontró que, al evaluar la distribución en percentilos de la tasa de revisión manual, el 10% de las instituciones participantes (percentil 10) revisaban menos del 9.9% de los extendidos, llegando a ser en algunos casos cercana al 3%. En el otro extremo existía un 10% de instituciones (percentil 90) en las cuales la tasa de revisión de los frotis era superior al 50%³, superando el 30% recomendado por el CAP. Estas diferencias podrían deberse entre otras cosas a las características propias de la población estudiada, al número de camas de la institución (número de muestras procesadas), a la complejidad y metodología del contador hematológico, y a los valores de corte de los diferentes parámetros (recuento de eritrocitos, leucocitos, plaquetas, hemoglobina, volumen corpuscular medio), que se toman como criterios de alarma para realizar la revisión del frotis. En algunos centros se utilizan también otros criterios como por ejemplo la edad del paciente, el diagnóstico o servicio del cual provie-

ne, el tiempo que transcurrió desde la última revisión o que el médico solicite la revisión del frotis independientemente de si el analizador haya arrojado o no algún tipo de alarma.

En laboratorios donde se procesan diariamente un gran número de muestras existe generalmente una cierta presión por la disminución de los costos, como así también por acortar el período de entrenamiento del personal y disminuir el tiempo de entrega de los resultados. Esto hace que en algunos laboratorios de hematología, el hecho de decidir en qué muestras realizar la revisión manual del frotis y en cuáles no, esté estrechamente relacionado con los costos y la productividad del laboratorio³.

Los contadores hematológicos generan alarmas morfológicas cuando detectan células anormales. Si bien estas alarmas muestran un aceptable desempeño en términos de sensibilidad y especificidad y pueden ser de utilidad en el proceso de revisión, además, hay que tener en cuenta que diferentes instrumentos muestran una considerable variación en la detección de células anormales⁴. En la mayoría de los laboratorios se utilizan estas alarmas, tanto las definitivas (cuantitativas) como las de sospecha (cualitativas o morfológicas), para detectar aquellas muestras en las que se debe realizar la revisión microscópica del extendido.

Lantis K. y col.⁵ proponen fijar criterios basados en las alarmas definitivas y de sospecha arrojadas por el contador hematológico para determinar si se realiza sólo un escaneo microscópico del frotis o si debe realizarse, también, el diferencial manual. Otros centros consideran necesario realizar la revisión del frotis con o sin el recuento diferencial (DIF), en todo paciente de primera vez, independientemente de si los resultados del CBC o DIF son normales o anormales⁶.

En el año 2005, la Sociedad Internacional de Laboratorios de Hematología (ISLH), a través del Grupo de Consenso Internacional para la revisión en Hematología (ICGHR, International Consensus Group for Hematology Review)^{7,8}, formado por reconocidos hematólogos de diferentes países, recomendó la revisión manual del frotis de sangre periférica teniendo en cuenta ciertas reglas con el objetivo de evitar las revisiones innecesarias (falsos positivos), tratando al mismo tiempo de disminuir al máximo los casos en los que no se detectan anomalías de relevancia clínica (falsos negativos). Estas reglas, que se plantean como una herramienta para mejorar el desempeño del sistema de alarmas de los analizadores, son indicativas, por lo que cada laboratorio debería validarlas sobre la población de pacientes que atiende⁹. Es por eso que el objetivo de este estudio fue

verificar los criterios de revisión propuestos por el Grupo de Consenso para evaluar su aplicabilidad en pacientes pediátricos.

Materiales y métodos

Para evaluar la aplicabilidad de las reglas propuestas por el ICGHR para determinar en qué muestras está indicada la revisión del frotis, se analizaron 1000 reportes del recuento celular completo obtenidos del contador hematológico, pertenecientes a pacientes pediátricos tanto ambulatorios como internados durante un período de dos meses.

Las muestras fueron procesadas en un contador Beckman-Coulter LH750 que arroja el diferencial leucocitario de 5 poblaciones y alarmas “definitivas” sobre la base de valores de corte cuantitativos definidos [Ej.: linfocitosis, microcitosis] y “de sospecha” basadas en distribuciones aberrantes de las diferentes poblaciones o potenciales interferencias [Ej.: blastos, granulocitos inmaduros].

Todas las muestras fueron analizadas dentro de las 2 horas de extraídas. Los frotis de la totalidad de las muestras se realizaron y colorearon con May Grünwald - Giemsa. Un operador avezado realizó la revisión microscópica, observando la morfología celular, y el recuento diferencial manual en 100 elementos.

El programa de control de calidad incluyó la evaluación de 3 niveles de control de calidad interno provisto: el de calidad interno provisto por el fabricante y una muestra quinceenal de un control externo internacional (RIQAS).

Las reglas propuestas por el consenso se muestran en la tabla I, en la que se enumera cada parámetro con el valor de corte que genera la revisión del frotis y otras consideraciones, como por ejemplo, si es la primera vez o se cuenta con datos previos del paciente; así mismo, si los datos corresponden a un adulto, a un niño o a un neonato. De las 41 reglas aplicadas, 15 están referidas a los parámetros del recuento básico de células, 7 relacionados al diferencial leucocitario, basadas en el recuento absoluto de las 5 poblaciones leucocitarias informadas por el analizador, 17 relacionadas a alarmas de sospecha del equipo (incluyendo alarmas de glóbulos rojos, blancos y plaquetas) y 2 relacionadas a los reticulocitos. Los criterios de relevancia clínica utilizados para considerar un frotis como anormal (positivo) en base a la observación microscópica se muestran en la tabla II.

En cada muestra se evaluó qué regla del consenso era positiva y se comparó con los hallazgos obtenidos durante la revisión microscópica del frotis. Si en el informe del analizador se detectaba alguna de las reglas y el frotis presentaba un hallazgo positivo la muestra era considerada un “verdadero positivo”. Si en el informe del analizador se detectaba alguna de las reglas, pero el frotis no presentaba ningún hallazgo positivo la muestra era considerada un “falso positivo”. Si en el informe del analizador no se observaba ninguna de las reglas y el frotis presentaba un hallazgo positivo, la muestra era considerada un “falso negativo”. Por

último, si el informe del analizador no había generado ninguna de las reglas y el frotis no presentaba hallazgos positivos la muestra era considerada un “verdadero negativo”.

De las 1000 muestras, 900 correspondían a muestras de primera vez, y 100 correspondían a segundas muestras del mismo paciente, con el objeto de chequear las *delta rules* para muestras repetidas. El *delta check* corresponde al porcentaje máximo de variación permitido para un parámetro desde la última determinación. Evaluar el “*delta check*” permite reducir la observación microscópica reconociendo anomalías hematológicas detectadas y validadas previamente. El ICGHR no especifica valores límites por encima de los cuales considerar que existe una variación significativa en un determinado parámetro, ya sea positivo o negativo. Por lo tanto, para establecer si un cambio de valores de dos exámenes seriados representa un cambio en el estado de salud del paciente, se calculó la diferencia crítica o “*reference change value*” (RCV) considerando la variabilidad biológica (CVB) intraindividual y el coeficiente de variación analítico (CVA) de acuerdo a la siguiente fórmula, considerando un *score Z* de 1,96 para cambios significativos con probabilidad del 95%^{10,11}. $RCV = 2 \frac{1}{2} \times Z \times (CVB^2 + CVA^2)^{\frac{1}{2}}$

Resultados

La sección hemocitología del Laboratorio Central del Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez procesa más de 36.000 hemogramas anuales en los cuales se realiza el recuento diferencial leucocitario manual del 100% de las muestras.

La edad media de los pacientes incluidos en el estudio fue de $7,6 \pm 6,0$ años (rango: 1 mes a 21 años). El 59 % de las muestras correspondió a pacientes ambulatorios y 41 % a pacientes internados. Esta proporción es representativa de la relación pacientes internados / ambulatorios que se atienden diariamente en la institución.

El 64,7 % de las muestras presentó al menos uno de los criterios de revisión propuestos por el ICGHR, que llevaría a la observación microscópica del frotis. Las alteraciones reportadas con mayor frecuencia por el analizador de acuerdo a los criterios del consenso, se muestran en la tabla III, en la que puede observarse que la principal alteración reportada fue la presencia de una alarma de sospecha y la referida a la presencia de desvío a la izquierda o granulocitos inmaduros.

En la revisión microscópica de las muestras, las principales alteraciones observadas fueron: alteraciones moderadas de la morfología de la serie roja (21,8 %), desvío a la izquierda (14,1 %), alteraciones morfológicas de las plaquetas (5,4 %), glóbulos rojos nucleados (4,1 %) y granulaciones tóxicas en neutrófilos (2,4 %).

Los resultados de la comparación entre los hallazgos obtenidos en la observación microscópica del frotis, con las anomalías informadas por el analizador, teniendo en cuenta las reglas del consenso se muestran en la Tabla IV. Se obtuvo un 35,9 % (359/1000) de falsos positivos. De estos, el 63,7 % (229 / 359) fue por alarmas de sospecha del equipo [Ej.: neutrófilos inmaduros 1, hipocromía] no

Tabla I. Reglas para la revisión microscópica del recuento automático de células y el diferencial leucocitario propuestas por el Grupo de Consenso Internacional para la Revisión en Hematología. Adaptado de Barnes P y col. Laboratory Hematology 2005;11:83-90.

Regla Nº	Parámetro	1º Criterio	y/o	2º Criterio	y/o	3º Criterio	y/o	4º Criterio
1	Neonato	Primera muestra						
2	GB, GR, Hb, PLT, Retic	Excede linealidad						
3	GB, PLT	Por debajo de la linealidad verificada por el laboratorio						
4	GB, GR, Hb, PLT	Sin resultados						
5	GB	< 4,0 o >30,0	Y	Primera vez				
6	GB	< 4,0 o >30,0	Y	Fallo en el <i>delta check</i>	y	Dentro de los 3 días del dato previo		
7	PTL	< 100 o > 1000	Y	Primera vez				
8	PTL	Cualquier valor	Y	Fallo en el <i>delta check</i>				
9	Hb	< 7 g/dl o > 2 g/dl por encima del límite superior del rango de referencia para edad y sexo	Y	Primera vez				
10	VCM	< 75 fl o > 105 fl (adultos)	Y	Primera vez	Y	Muestra de menos de 24 hs de extraída		
11	VCM	> 105 fl	Y	Adultos	Y	Muestra de menos de 24 hs de extraída		
12	VCM	Cualquier valor	Y	Fallo en el <i>delta check</i>	Y	Muestra de menos de 24 hs de extraída		
13	CHCM	≥ 2 unidades sobre el límite superior del rango de referencia						
14	CHCM	< 30	Y	VCM normal / alto				
15	ADE	> 22	Y	Primera vez				
DIFERENCIAL								
16	Falta de diferencial o diferencial incompleto							
17	Neutrófilos #	< 1,0 o > 20,0	Y	Primera vez				
18	Linfocitos #	> 5,0 [adultos] o >7,0 [<12 años]	Y	Primera vez				
19	Monocitos #	> 1,5 [adultos] o > 3,0 [<12 años]	Y	Primera vez				
20	Eosinófilos #	> 2,0	Y	Primera vez				
21	Basófilos #	> 0.5	Y	Primera vez				
22	GRN #	Cualquier valor	Y	Primera vez				
RETICULOCITOS								
23	Recuento absoluto de reticulocitos	> 0,100	Y	Primera vez				
ALARMAS DE SOSPECHA								
24	Alarma de sospecha [Excepto GB inmaduros]	Alarma +	Y	Primera vez	y	Adulto		
25	Alarma de sospecha	Alarma +	Y	Primera vez	y	Niño		
26	Recuento de GB poco confiable	Alarma +	Cualquiera					
27	Fragmentos de GR	Alarma +	Cualquiera					

Regla Nº	Parámetro	1º Criterio	y/o	2º Criterio	y/o	3º Criterio	y/o	4º Criterio
28	GR dismórficos	Alarma +	Y	Primera vez				
29	GR resistentes a la lisis	Alarma +	Cualquiera					
30	Alarma de acúmulos plaquetarios	Cualquier recuento						
31	Alarmas de PLT	Alarma de PLT o VPM excepto acúmulos plaquetarios						
32	Alarma de granulocitos inmaduros	Alarma +	Y	Primera vez				
33	Alarma de granulocitos inmaduros	Alarma +	Y	Resultado previo confirmado	y	Fallo (+) del <i>delta check</i> para GB		
34	Alarma de desvío a la izquierda	Alarma +						
35	Linfocitos atípicos / variantes	Alarma +	Y	Primera vez				
36	Linfocitos atípicos / variantes	Alarma +	Y	Resultado previo confirmado	y	Fallo (+) del <i>delta check</i> para GB		
37	Alarma de blastos	Alarma +	Y	Primera vez				
38	Alarma de blastos	Alarma +	Y	Resultado previo confirmado	y	<i>Delta check</i> correcto o (-) para GB	y	Dentro de 3 a 7 días
39	Alarma de blastos	Alarma +	Y	Resultado previo confirmado	y	Fallo (+) del <i>delta check</i> para GB		
40	Alarma de eritroblastos	Alarma +						
41	Retic	Patrón anormal						

► GB: glóbulos blancos; GR: glóbulos rojos; PLT: Plaquetas; VCM: volumen corpuscular medio; Retic: reticulocitos; VPM: volumen plaquetario medio; GRN: glóbulos rojos nucleados; ADE: ancho de distribución de los eritrocitos; CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media; Hb: hemoglobina.

confirmadas por frotis. El porcentaje de falsos negativos obtenido fue del 2,8 % [28 / 1000]. Los falsos negativos correspondieron a morfología eritrocitaria en 13 de las 28 muestras (46,4 %) incluyendo la presencia de formas de hemólisis (esquistocitos) (Figura 1), morfología plaquetaria (macroplaquetas) en 10 de los 28 casos (35,7 %) (Figura 2), desvío izquierdo (promielocitos, mielocitos, metamielocitos o más de 5% de neutrófilos en cayado) en 5 de las 28 (17,9 %) (Figura 3) y linfocitos atípicos en 3 de los 28 casos (0,7 %) (Figura 4) de falsos negativos. En algunas de estas muestras se detectó más de una alteración. En las figuras 1 a 4 se muestran algunas alteraciones que si están presentes en baja proporción pueden no ser detectadas por los analizadores.

No se observó diferencia significativa entre el porcentaje de falsos negativos entre pacientes internados y ambulatorios.

Conclusión

Los contadores hematológicos automáticos son superiores a los métodos manuales en lo que respecta al recuento de leucocitos, eritrocitos y plaquetas, y al recuento diferencial leucocitario en el caso de células maduras bien diferenciadas, mientras que la microscopía es superior para la diferenciación celular basada en las características morfológicas, especialmente en la caracterización de células

inmaduras.

De acuerdo con las consideraciones del CAP, la tasa de revisión manual del frotis en laboratorios que utilizan contadores hematológicos capaces de proveer información en forma automática equivalente a la que aporta la revisión microscópica, debería ser considerada un indicador de la eficiencia o productividad de ese laboratorio y no una medida de la calidad de los resultados producidos o de calidad aplicada al cuidado del paciente. En un estudio publicado por Novis y col.³, se ha demostrado que la productividad de un laboratorio está inversamente relacionada con la tasa de revisión manual del diferencial leucocitario. Por lo tanto, la determinación de la tasa de revisión debería ser considerada un punto importante en la gestión de calidad del laboratorio de hematología.

Varios autores recomiendan la realización de una revisión rápida o escaneo del frotis, sin el recuento diferencial leucocitario, como un método de verificar el diferencial automático y realizar el diferencial manual en aquellos frotis en los que exista discordancia entre el escaneo y el diferencial automático⁵. En muchos casos la revisión se realiza para verificar el recuento automático de plaquetas en aquellas muestras con recuentos por debajo de 100×10^9 / L. En estas muestras se debe descartar la presencia de pseudo-trombocitopenias debidas a agregados plaquetarios o plaquetas gigantes, que pueden conducir a estudios

Tabla II. Criterios utilizados para considerar un frotis como anormal (positivo) en base a la observación microscópica.

1- Morfología	
a.	Morfología de los glóbulos rojos moderada (2+) o mayor. La única excepción es la detección de malaria donde cualquier hallazgo es considerado positivo
b.	Morfología de las plaquetas (plaquetas gigantes) moderada (2+) ó mayor
c.	Agregados plaquetarios mayor a raros / aislados
d.	Cuerpos de Döhle moderado (2+) o mayor
e.	Granulaciones tóxicas moderado (2+) o mayor
f.	Vacuolas moderado (2+) o mayor
2- Tipos celulares anormales	
a.	Blastos $\geq 1\%$
b.	Metamielocitos $> 2\%$
c.	Mielocitos / promielocitos $\geq 1\%$
d.	Linfocitos atípicos $> 5\%$
e.	Glóbulos rojos nucleados $\geq 1\%$
f.	Células plasmáticas $\geq 1\%$

Tabla III. Alteraciones más frecuentes detectadas en los reportes del analizador de acuerdo a los 41 criterios propuestos por el Consenso de la ISLH en 1000 muestras de hemograma de pacientes pediátricos.

Criterio propuesto por el ICGHR	Frecuencia (%)
Presencia de al menos una alarma de sospecha excepto granulocitos inmaduros	45,3
Granulocitos inmaduros	20,8
PLT $< 100 \times 10^3 / \mu\text{l}$ o $> 1000 \times 10^3 / \mu\text{l}$ o fallo en el delta check	15,4
Glóbulos blancos $< 4,0 \times 10^3 / \mu\text{l}$ o $> 30,0 \times 10^3 / \mu\text{l}$ o fallo en el delta check	9,7
VCM $< 75 \text{ fl}$ o $> 105 \text{ fl}$ o fallo en el delta check	8,5
Agregados plaquetarios o alarmas referidas al Volumen plaquetario medio	5,4
Falta de diferencial o diferencial incompleto	4,1

Tabla IV. Resumen de verdaderos positivos y negativos, y falsos positivos y negativos en el análisis de las reglas de revisión propuestas por el ICGHR en 1000 muestras de hemogramas pediátricos teniendo como método de referencia la observación microscópica del frotis de sangre periférica.

	Número	%
Verdaderos positivos	288	28,8
Falsos positivos	359	35,9
Verdaderos negativos	325	32,5
Falsos negativos	28	2,8
Total de muestras	1000	100

complementarios innecesarios o a que se postergue una cirugía, y en casos extremos a una transfusión de plaquetas⁶. Otros hallazgos que pueden llevar a la revisión del frotis son la presencia de resultados con alarmas que indican interferencias ["*", "R"] en el reporte del recuento celular completo o el diferencial, de histogramas o gráficos aberrantes, o la presencia de alarmas de sospecha como las de blastos, linfocitos atípicos, granulocitos inmaduros o glóbulos rojos nucleados o fragmentos de glóbulos rojos.

La mayoría de los analizadores generalmente presentan una alta tasa de alarmas que son falsos positivos, con el fin de no dejar de detectar anomalías de potencial utilidad clínica, por lo que habría que considerarlos como herramientas de screening para detectar aquellas muestras que requieren una revisión manual.

El ICGHR ha propuesto una serie de reglas que disparan la revisión del frotis de sangre periférica sobre la base de criterios que consideran los recuentos celulares, las alarmas definitivas o de sospecha que reporta el contador hematológico

y algunas características del paciente como por ejemplo la edad⁸. Es recomendable, previamente a la verificación de las reglas de revisión, conocer el desempeño del sistema de alarmas, determinando sensibilidad y especificidad de cada una de ellas, con el objetivo de conocer la eficiencia clínica del analizador utilizado¹². Algunos laboratorios simplemente adoptan estos criterios publicados sin una evidencia empírica¹³. Sin embargo, se recomienda que las reglas propuestas por el consenso del ICGHR para la revisión del frotis sean validadas en cada laboratorio teniendo en cuenta las características de su población. Esta validación inicial es fundamental para determinar si es necesario o no optimizar y / o adaptar los criterios de revisión, y realizar luego una nueva validación de las mismas. Esto es particularmente importante en laboratorios donde se atiende población pediátrica. Como se ha reportado en la bibliografía, la mayor cantidad de alarmas que disparan la revisión del frotis se da en pacientes menores a 10 años. Las principales causas del aumento en la proporción de revisiones en este grupo

Figura 1. Marcada poiquilocitosis con esquistocitos. May Grünwald - Giemsa (1000X).

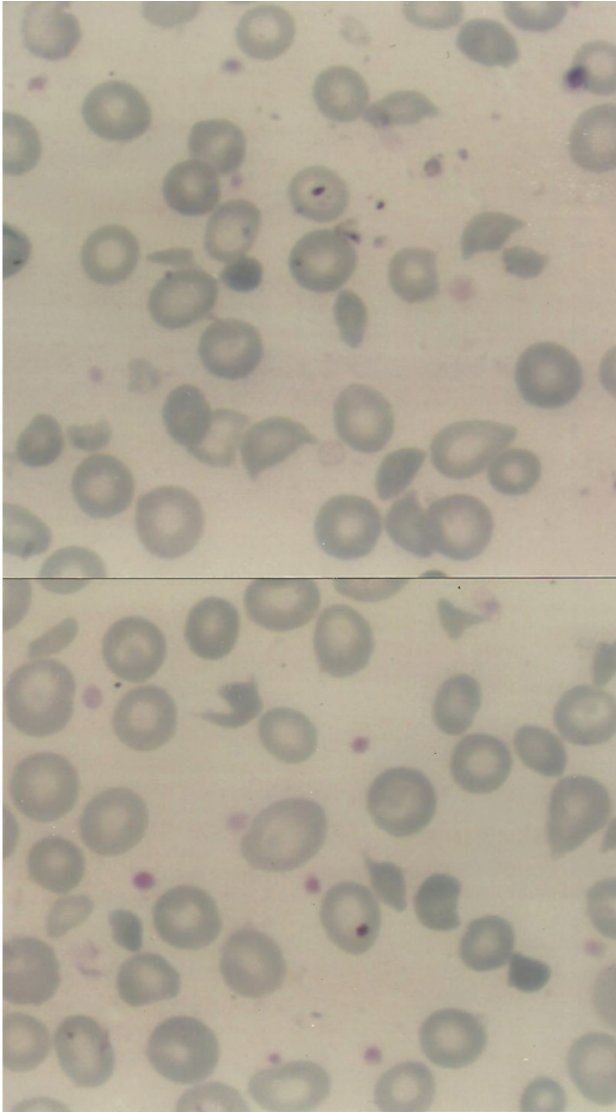
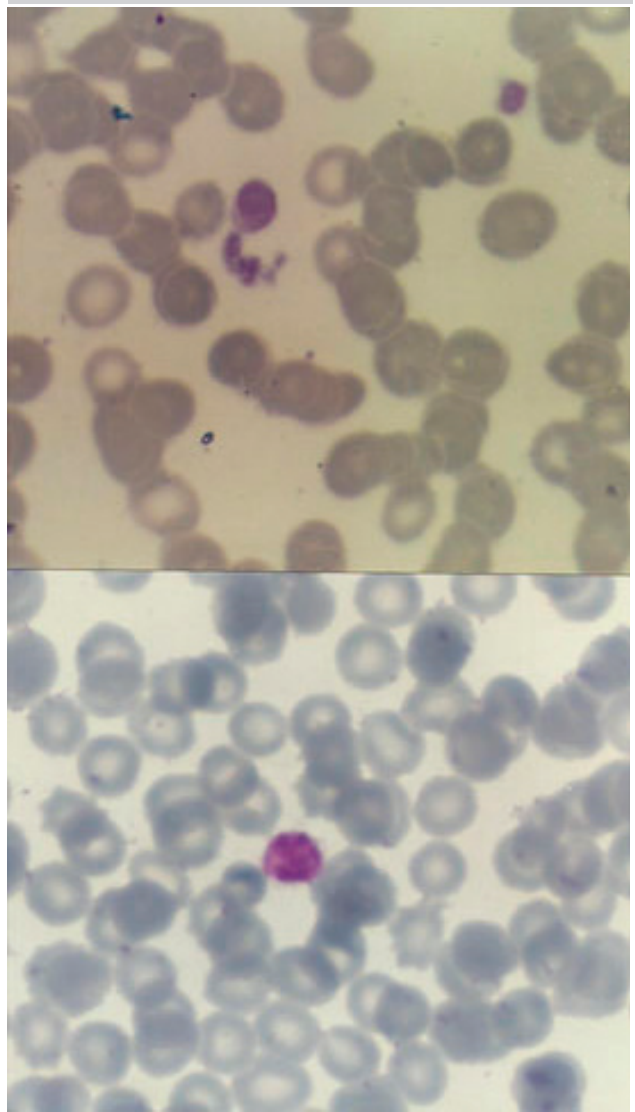


Figura 2. Macroplaquetas de tamaño similar a un glóbulo rojo. May Grünwald - Giemsa (1000X).



etario fueron un aumento en el recuento absoluto de linfocitos, la presencia de linfocitos atípicos, la alarma de blastos y la alarma de granulocitos inmaduros¹⁴. Por otra parte, en el caso de las anemias hemolíticas como la esferocitosis hereditaria o las anemias hemolíticas microangiopáticas, de frecuente diagnóstico en pediatría, es fundamental la observación de la morfología eritrocitaria para la detección de esquistocitos¹⁵.

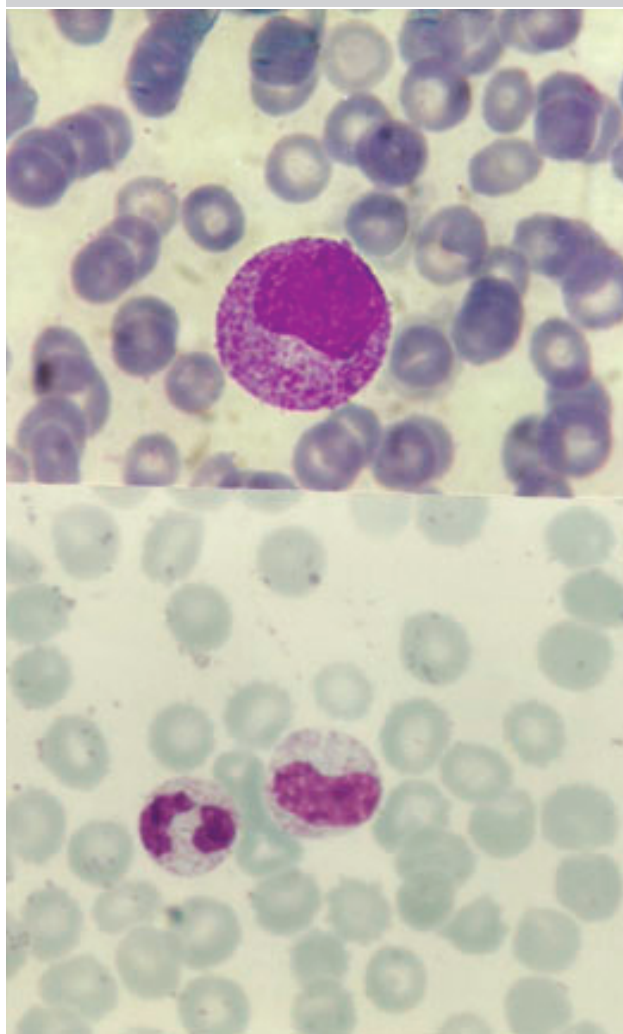
Como se observa en la tabla IV, el porcentaje de falsos negativos obtenido en este estudio aplicando las reglas del ICGHR fue del 2,8 %. Del análisis de los falsos negativos surge que la alteración que presentó mayor discordancia fue la morfología de serie roja, incluyendo el caso de un paciente con síndrome urémico hemolítico de reciente diagnóstico el cual presentaba un bajo número de esquistocitos en el extendido. En cuanto al 35,9 % de falsos positivos se pudo observar que la mayor parte correspondió a alarmas de sospecha, fundamentalmente las referidas a la presencia de

granulocitos inmaduros. Este porcentaje resultó superior al reportado en la bibliografía en otros grupos^{7,9}.

Se debe tener en cuenta también que la mayoría de los pacientes que concurren a un hospital de alta complejidad y de referencia, para el estudio de patologías en algunos casos poco frecuentes, presentan generalmente enfermedades severas, que se asocian en un gran número de casos con resultados anormales en el CBC. Esto genera por lo tanto, la necesidad de un mayor número de revisiones del frotis de sangre periférica.

Si bien en este estudio la tasa de falsos negativos obtenidos aplicando las reglas propuestas por el ICGRH resultó aceptable, considerándose como aceptable una tasa de falsos negativos inferior al 5 % para garantizar la seguridad del paciente y teniendo en cuenta las características de la población que concurre al laboratorio; se concluye que es fundamental realizar la revisión rápida del frotis en el 100% de las muestras y llevar a cabo el diferencial leucocitario ma-

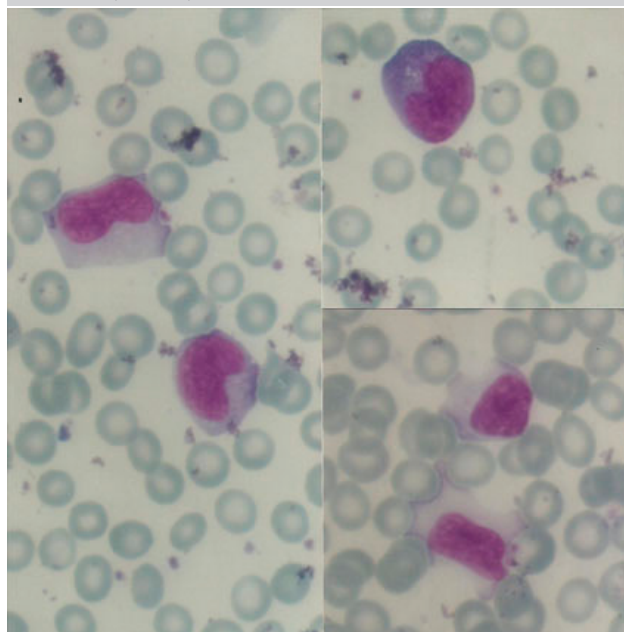
Figura 3. Desvío a la izquierda. En la parte superior se observa un mielocito neutrófilo y en la parte inferior un neutrófilo maduro y un metamielocito neutrófilo. May Grünwald - Giemsa [1000X].



nual en aquellas en las que se observen células inmaduras o atípicas. Del mismo modo, se recomienda, especialmente en pacientes pediátricos, realizar una descripción detallada de las características morfológicas de leucocitos, eritrocitos y plaquetas cuando se detecten, en el escaneó rápido del frotis, anomalías que pueden ser fundamentales para el diagnóstico de ciertas enfermedades (vacuolas o gránulos citoplasmáticos anómalos en leucocitos, punteado basófilo, hemoparásitos, cuerpos de Howell Jolly, eliptocitos / acantocitos, esquistocitos en bajo número, plaquetas grises, etc.), teniendo en cuenta que estas anomalías morfológicas generalmente no son detectadas por los analizadores.

En cuanto a las reglas que evalúan el *delta check*, se debe considerar que presentan una limitación por ser poco aplicables en laboratorios que no poseen un sistema informático configurable, que realice los cálculos e informe la presencia de un *delta check* positivo o negativo con respecto a los datos previos del paciente. A esto se le suma el hecho de que la ISLH no fija límites específicos para el *delta check*,

Figura 4. Linfocitos reactivos con abundante citoplasma en algunos casos interdigitado entre los glóbulos rojos y/o con marcada basofilia citoplasmática. May Grünwald - Giemsa [1000X].



por lo que cada laboratorio debe decidir cuál utilizar. En este trabajo se utilizó la diferencia crítica o valor de referencia de cambio que utiliza la variabilidad biológica y el coeficiente de variación analítico, para determinar si el cambio entre dos valores sucesivos de un paciente presenta una variación clínicamente significativa que justifique la revisión del frotis.

Aun cuando la biología molecular ha mejorado ampliamente la sensibilidad y especificidad del diagnóstico de ciertas patologías hematológicas, la observación minuciosa del frotis de sangre periférica a cargo de un profesional entrenado, sigue siendo una herramienta diagnóstica irremplazable.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Kang SH, Kim HK, Ham CK, Lee DS, Cho HI. Comparison of four hematology analyzers, CELL-DYN Sapphire, ADVIA 120, Coulter LH 750, and Sysmex XE-2100, in terms of clinical usefulness. *Int. Jnl. Lab. Hem.* 2008;30: 480–486.
2. Bain BJ. Diagnosis from the blood smear. *N Engl J Med* 2005;353:498-507.
3. Novis D, Walsh M, Wilkinson D, St. Louis M, Ben-Ezra J. Laboratory productivity and the rate of manual peripheral blood smear review. A College of American Pathologists Q-Probes study of 95141 complete blood count determinations in 263 institutions. *Arch Pathol Lab Med* 2006;130:596-601.
4. Leers MP, Goertz H, Feller A, Hoffmann JJ. Performance evaluation of the Abbott CELL-DYN Ruby and the Sysmex XT-2000i haematology analysers. *Int. Jnl. Lab.*

- Hem. 2011;33:19-29.
5. Lantis K, Harris J, Davis G, Renner N, Finn W. Elimination of instrument-driven reflex manual differential leukocyte counts. Optimization of manual blood smear review criteria in a high-volume automated haematology laboratory. *Am J Clin Pathol* 2003;119:656-662.
 6. Gulati G, Song J, Dulau Florea A, Gong J. Purpose and criteria for blood smear scan, blood smear examination, and blood smear review. *Ann Lab Med* 2013;33: 1-7.
 7. Barnes P, McFadden S, Machin S, Simson E. The International Consensus Group for Hematology Review: Suggested criteria for action following automated CBC and WBC differential analysis. *Laboratory Hematology* 2005;11:83-90.
 8. International Society for Laboratory Hematology. Disponible en: www.islh.org [Último acceso 9.9.2014].
 9. 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.
 10. Harris EK, Masaka T. On the calculation of a "reference change" for comparing two consecutive measurements. *Clin Chem* 1983;29: 25-30.
 11. Guzmán AM. ¿Cuándo dos exámenes seriados de laboratorio representan un cambio en el estado de salud del paciente? *Rev Med Chile* 2010;138:780-783.
 12. Osta V, Segura C, Tissera G, Ayuso C. Estudio de eficiencia y sensibilidad de alarmas de dos analizadores hematológicos en un hospital pediátrico. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2014; 48(1):71-9.
 13. Cui W, Wu W, Wang X, Wang G, Hao Y, Chen Y. Development of the personalized criterio for microscopic review following four different series of hematology analyzer in Chinese large scale hospital. *Chin Med J [Engl]* 2010;123(3):231-7.
 14. Froom P, Havis R, Barak M. The rate of manual peripheral blood smear reviews in outpatients. *Clin Chem Lab Med* 2009;47:1401-1405.
 15. Zini G, D'Onofrio G, Briggs C, Erber W, Jou JM, Lee SH, McFadden S, Vives Corrons JS, Yutaka N, Lesesve JF. ICSH recommendations for identification, diagnostic value, and quantitation of schistocytes. *Int. Jnl. Lab. Hem.* 2012;34:107-116.