

## Bioquimia

Volumen **28**  
Volume

Número **3**  
Number

Septiembre **2003**  
September

*Artículo:*

Comparación entre tres métodos manuales  
empleados en la cuenta diferencial de  
leucocitos respecto a un equipo  
automatizado

Derechos reservados, Copyright © 2003:  
Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica, AC

**Otras secciones de  
este sitio:**

-  [Índice de este número](#)
-  [Más revistas](#)
-  [Búsqueda](#)

***Others sections in  
this web site:***

-  [Contents of this number](#)
-  [More journals](#)
-  [Search](#)



[www.Medigraphic.com](http://www.Medigraphic.com)

## HEMATOLOGÍA

# Comparación entre tres métodos manuales empleados en la cuenta diferencial de leucocitos respecto a un equipo automatizado

Eduardo Brambila\*<sup>1</sup>, Rosalba Castillo-Guerra<sup>1</sup> y Patricia Lozano-Zarain<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Investigaciones Químico Clínicas, Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, Pue. México.

<sup>2</sup>Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, ICUAP, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, Pue. México.

\*Sobretiros: Laboratorio de Investigaciones Químico Clínicas, Facultad de Ciencias Químicas, BUAP. Av. 18 Sur y Av. San Claudio, Edif. 179 Cd. Universitaria, San Manuel. C.P. 72570. Puebla, Pue. México. e-mail: ebrambil@siu.buap.mx

Recibido: 18/03/03

Aceptado: 18/08/03

## Resumen

**Introducción.** No obstante que el recuento diferencial, basado en extensiones sanguíneas continúa siendo un método frecuente en los laboratorios, los resultados son imprecisos e inexactos, especialmente para células de gran tamaño y bajo número.

**Objetivo.** Comparar los resultados del recuento diferencial de tres métodos manuales con los resultados de un autoanalizador de células hemáticas.

**Material y métodos.** A partir de 200 especímenes se prepararon extensiones por los métodos transversal, longitudinal y de la plumilla. Las extensiones se tiñeron y se realizó el diferencial. Simultáneamente se evaluó el número leucocitos y el recuento diferencial con un autoanalizador. El análisis estadístico incluyó la estimación de los coeficientes de variación (CV) intra- e inter-individuales, y la comparación de métodos con la prueba pareada *t*, análisis de correlación y regresión de Deming.

**Resultados y Discusión.** Los CV oscilaron entre 5.7 y 77.5%, las diferencias dependieron del tipo celular y la técnica de preparación de las extensiones. Los métodos transversal y de la plumilla no mostraron diferencias significativas para los polimorfonucleares y neutrófilos, sin embargo, el recuento de neutrófilos por el método longitudinal mostró diferencias significativas. Independientemente de los métodos, el recuento de linfocitos y monocitos mostró diferencias significativas en comparación con el equipo automatizado.

**Conclusiones.** Estos resultados ponen en evidencia la existencia de errores intrínsecos en los métodos manuales para el recuento de linfocitos y monocitos.

**Palabras Clave.** Cuenta diferencial de leucocitos, extensiones sanguíneas, comparación de métodos, regresión de Deming, variabilidad intra- e inter-individual.

## Abstract

**Introduction.** Leukocyte differential counts, based in blood films is a routinely method in clinical laboratories, however, results are imprecise and biased, particularly for big cells and cells circulating in small number.

**Objective.** Comparison between results obtained from three manual methods, based in blood films review, and the results obtained from a cell auto-analyzer.

**Material and methods.** Two hundred specimens were used to prepare blood films using transversal, longitudinal and pen smears on slides methods. At the same time, leukocyte total number and differential counts from specimens were determined with an auto-analyzer. Statistical analysis included intra- and inter-individual variability, and method comparison was evaluated with paired *t* test, correlation and Deming regression analysis.

**Results and Discussion.** Intra- and inter-individual variability, as determined by the coefficient of variation, ranged between 5.7 and 77.5%, differences were dependent of cellular type and blood film preparation. Transversal and pen methods did not shown significant differences in polymorphonuclear and neutrophil leukocyte counts, however neutrophil number determined by longitudinal film method showed a significant difference, as compared with the automated method.

**Conclusion.** Independently of blood film preparation methods used, lymphocytes and monocytes number shown significant differences when were compared with an automated equipment.

**Key words.** Leukocyte differential count, blood films, method comparison, Deming regression, intra- and inter-individual variability.

## Introducción

Los recuentos diferenciales tienen como finalidad obtener información de la distribución relativa de los diferentes

leucocitos en sangre periférica. El porcentaje obtenido, o más adecuadamente, el número absoluto de cada célula es de gran utilidad para el diagnóstico de múltiples enfermedades, orienta en la elección del tratamiento a seguir en los pacientes

y pone de manifiesto la existencia de efectos secundarios en pacientes que reciben quimioterapia o radioterapia.<sup>1</sup>

Los laboratorios clínicos utilizan diferentes procedimientos para efectuar el recuento diferencial de los leucocitos, los más empleados se basan en la preparación de extensiones sanguíneas sobre cubreobjetos o portaobjetos. Actualmente se dispone de técnicas semi-automatizadas para la preparación de extensiones sanguíneas con algunas ventajas sobre los métodos tradicionales.<sup>1,2</sup> Sin embargo, los resultados obtenidos a partir de extensiones sanguíneas generalmente son imprecisos e inexactos, debido a la tendencia de algunas células, especialmente las de gran tamaño, a distribuirse hacia los extremos y al final de las extensiones sanguíneas, al bajo número de células contadas, errores significativos de muestreo, etc.<sup>2-4</sup> Como una alternativa para disminuir el error intrínseco de los métodos manuales, se ha hecho extensivo el uso de analizadores hematológicos, los cuales se basan en el conteo y la diferenciación de un gran número de leucocitos.<sup>5</sup> No obstante que estos analizadores producen resultados bastante precisos para todos los parámetros hematológicos, en muchas ocasiones, los resultados de la cuenta diferencial deben ser corroborados mediante una inspección visual de las células, especialmente en los casos donde se sospecha la existencia de una patología. Aunado a lo anterior, y tomando en consideración que aún un gran número de laboratorios emplean técnicas manuales para el recuento diferencial de leucocitos, este trabajo se llevó a cabo con la finalidad de comparar los resultados de tres métodos manuales empleados en los laboratorios de análisis clínicos con los resultados obtenidos al emplear un analizador de células hemáticas.

## Material y métodos

### Especímenes

Para este estudio se emplearon 200 especímenes de sangre total, obtenidos a partir de individuos sin evidencia clínica de alteraciones hematológicas, con una edad que osciló entre los 28 y 55 años. Los especímenes se recolectaron con un sistema de extracción al vacío (Vacutainer) en tubos con EDTA-Na<sub>2</sub> como anticoagulante. Inmediatamente después de obtenidos los especímenes, se prepararon las extensiones sanguíneas, como se describe más adelante. Simultáneamente, se determinó el número total de leucocitos y se evaluó el diferencial de los leucocitos en cada muestra.

### Preparación y tinción de las extensiones sanguíneas

**Portaobjetos.** Las extensiones sanguíneas se realizaron sobre portaobjetos de tamaño estándar, previamente tratados para eliminar la grasa y la suciedad que pudieran contener. Las laminillas de vidrio se sumergieron durante

5 min en alcohol etílico de 96° y posteriormente se dejaron secar al aire. Los portaobjetos se flamearon por ambas caras con un mechero y finalmente se almacenaron cuidando de no tocarlos con los dedos. Las extensiones sanguíneas se realizaron mediante los siguientes métodos:

**Método longitudinal.** Con una pipeta pasteur se colocó una gota de sangre a una distancia de uno a dos cm del borde de un portaobjetos, con el borde liso de un segundo portaobjetos y formando un ángulo de aproximadamente 30°, se extendió la gota de sangre teniendo cuidado de que el deslizamiento fuera constante y uniforme.<sup>2</sup>

**Método transversal.** Con una pipeta pasteur se colocó una gota de sangre en la parte media de un portaobjetos, sobre la gota se dejó caer un segundo portaobjetos, de tal manera que la sangre se extendiera en forma rápida y uniforme. En el momento en que la sangre dejó de extenderse, se deslizó paralelamente el portaobjetos superior con un movimiento constante.<sup>1</sup>

**Método con plumillas.** La punta de una plumilla (de las comúnmente empleadas para dibujo con tinta china) se sumergió en la muestra de sangre previamente mezclada, posteriormente la plumilla se presionó ligeramente contra la pared del tubo de la muestra para eliminar el exceso de sangre. La punta de la plumilla se colocó sobre un portaobjetos limpio, y formando un ángulo de aproximadamente 30°, se deslizó longitudinalmente aplicando una ligera presión. Este procedimiento se repitió dos veces más en diferentes lugares del mismo portaobjetos, obteniendo así tres extensiones lineales de sangre.<sup>6,7</sup>

**Tinción.** Una vez realizadas las extensiones sanguíneas, las células se tiñeron de acuerdo a la técnica de Wright.<sup>8</sup>

**Recuento de las células en las laminillas teñidas.** El personal seleccionado para realizar el recuento diferencial de leucocitos en las extensiones sanguíneas estuvo constituido por químicos clínicos con una experiencia de al menos 5 años en el área de hematología. El número de células evaluadas en cada extensión fue de 100, número rutinariamente contado en los laboratorios. En todos los casos, la cuenta de leucocitos se inició inspeccionando la extensión sanguínea con el objetivo de bajo aumento para así seleccionar la región con la mejor distribución de leucocitos. Posteriormente, se cambió al objetivo de inmersión colocándolo en el extremo superior de la extensión sanguínea, iniciándose el recuento y clasificación de los leucocitos en dirección del extremo inferior en campos sucesivos. Cuando fue necesario, se continuó con el recuento de más campos desde el extremo superior al inferior, hasta completar el número de células requeridas.<sup>8</sup> En el caso particular del método de la plumilla, la cuenta y clasificación de las células se inició desde

el inicio de la extensión sanguínea, hasta completar 100 células.<sup>6,7</sup> En este estudio únicamente se compararon polimorfonucleares (PMN), neutrófilos (N), linfocitos (L) y monocitos (M). Debido al bajo porcentaje de eosinófilos y basófilos en las extensiones sanguíneas, estas células se incluyeron en el grupo de los PMN. Los resultados obtenidos se expresaron en valores absolutos (células/ $\mu$ L) de cada tipo celular estudiado.

**Equipo automatizado.** La evaluación del número total de leucocitos y el diferencial de leucocitos en los especímenes se determinó con el autoanalizador de células hemáticas CellDyn 3000 (Abbot Laboratorios), de acuerdo a las instrucciones del proveedor. Este autoanalizador emplea un sistema capilar que permite la separación de células individuales. La incidencia de un rayo láser sobre cada célula produce un fenómeno de absorción y dispersión de luz de acuerdo a su tamaño. La luz emergente es captada y registrada por cuatro detectores localizados en diferentes ángulos. De esta forma el CellDyn 3000 es capaz de contar y diferenciar hasta 2,500 células/seg, los resultados son expresados en forma de histogramas de frecuencia en relación al volumen.<sup>9</sup> Para asegurar la calidad de los resultados, este estudio se realizó bajo un sistema de control de calidad interno basado en el uso diario de sangre control comercial a tres niveles. Los resultados fueron aceptados solo si los CV para la cuenta del total de leucocitos, N y L de los controles estuvieron dentro de los límites de tolerancia del 10%, criterio clínico de aceptabilidad de acuerdo a Dacie.<sup>10</sup>

### Análisis Estadístico

La variación intra-individual de los métodos manuales se estimó mediante el coeficiente de variación (CV) obtenido por un mismo químico al analizar 20 extensiones sanguíneas preparadas el mismo día de una muestra tomada al azar en 20 días consecutivos. La precisión inter-individual se evaluó mediante el CV obtenido del análisis de una extensión sanguínea tomada al azar por 20 químicos diferentes.

Para realizar la comparación estadística de cada uno de los métodos manuales respecto al equipo automatizado, se prepararon 200 extensiones sanguíneas por cada método manual y a la par se realizó la determinación automatizada de cada una de estas 200 muestras. Con la finalidad de eliminar el efecto de la variabilidad inter-individual en los resultados, los recuentos celulares se realizaron por un mismo analista. El análisis estadístico incluyó la prueba *t* para datos pareados, análisis de correlación y regresión de Deming con ayuda de los programas estadísticos Microsoft EXCEL, Method Validator y Cbstat. Los parámetros obtenidos con estos análisis permiten poner de manifiesto la existencia de errores al azar y errores sistemáticos constantes y proporcionales en cada método a evaluar.

Por ejemplo: la desviación estándar de la regresión ( $Sy/x$ ), la desviación estándar de las diferencias (SDd) y el coeficiente de correlación ( $r$ ) informan acerca de la existencia de errores al azar. La intersección de la línea de regresión en el eje de las ordenadas ( $a$ ) y el sesgo informan acerca de la magnitud de un error constante. Finalmente, el error proporcional puede ser estimado mediante la pendiente ( $b$ ), el sesgo y la SDd.<sup>11,12</sup>

## Resultados

En el cuadro 1 se muestran los CV para los PMN, N, L y M, obtenidos de 20 extensiones sanguíneas preparadas a partir de una muestra de sangre total, seleccionada al azar y evaluada por un mismo químico en 20 días consecutivos (variabilidad intra-individual), así como los CV del recuento diferencial de una extensión sanguínea evaluada por 20 químicos diferentes (variabilidad inter-individual). La variabilidad intra-individual osciló entre 5.7% y 47.2%, mientras que la variabilidad inter-individual fue del 6.3% al 77.5%. Las diferencias entre los CV dependieron del tipo celular evaluado y la técnica empleada para la preparación de las extensiones sanguíneas, los PMN y los N mostraron los menores CV, mientras que los L y M presentaron los CV mayores. Con relación a la técnica de preparación de las extensiones sanguíneas, la menor variabilidad se presentó con el método de la plumilla, seguido por el método transversal. La mayor variabilidad fue mostrada por el método longitudinal.

El cuadro 2 muestra los resultados estadísticos obtenidos de la comparación de 200 diferenciales de leucocitos entre los métodos manuales y el equipo automatizado. La comparación

**Cuadro 1.** Coeficientes de variación (%) del recuento diferencial de leucocitos por métodos manuales.

Variación	PMN	N	L	M
Intra-individual				
Método Longitudinal	8.5	8.4	9.1	47.2
Método Transversal	7.4	7.6	11.7	19.5
Método de la Plumilla	6.3	5.7	12.1	18.6
Inter-individual				
Método Longitudinal	9.6	10.2	18.3	77.5
Método Transversal	7.2	7.6	17.7	52.4
Método de la Plumilla	6.5	6.3	15.2	67.9

PMN-Polimorfonucleares, N-Neutrófilos, L-Linfocitos, M-Monocitos

**Cuadro 2.** Resultados estadísticos de los estudios de comparación entre los métodos manuales y el método automatizado para el recuento diferencial de leucocitos.

	n	Sesgo Células/ $\mu$ L	SD <sub>d</sub> Células/ $\mu$ L	r	b	a	S <sub>y/x</sub> Células/ $\mu$ L
<b>Polimorfonucleares</b>							
M. longitudinal	200	-190 <sup>a</sup>	370	0.914	0.959	-24	357
M. transversal	200	-9	336	0.927	0.972	124	327
M. plumilla	200	-32	265	0.950	0.974	90	261
<b>Neutrófilos</b>							
M. longitudinal	200	-140 <sup>a</sup>	381	0.905	0.960	12	368
M. transversal	200	36	330	0.929	0.986	105	323
M. plumilla	200	17	276	0.945	0.977	123	273
<b>Linfocitos</b>							
M. longitudinal	200	365 <sup>a</sup>	412	0.809	1.41 <sup>b</sup>	-604 <sup>c</sup>	412
M. transversal	200	40	291	0.863	1.14 <sup>b</sup>	-287 <sup>c</sup>	291
M. plumilla	200	64 <sup>a</sup>	269	0.881	1.11 <sup>b</sup>	-197 <sup>c</sup>	268
<b>Monocitos</b>							
M. longitudinal	200	-155 <sup>a</sup>	144	0.329	1.80 <sup>b</sup>	-556 <sup>c</sup>	134
M. transversal	200	-35 <sup>a</sup>	122	0.528	1.72 <sup>b</sup>	-395 <sup>c</sup>	120
M. plumilla	200	-59 <sup>a</sup>	115	0.567	1.49 <sup>b</sup>	-303 <sup>c</sup>	110

n = Número de muestras

SDd = Desviación estándar de las diferencias

r = Coeficiente de correlación

b = Pendiente

a = Intersección en las ordenadas

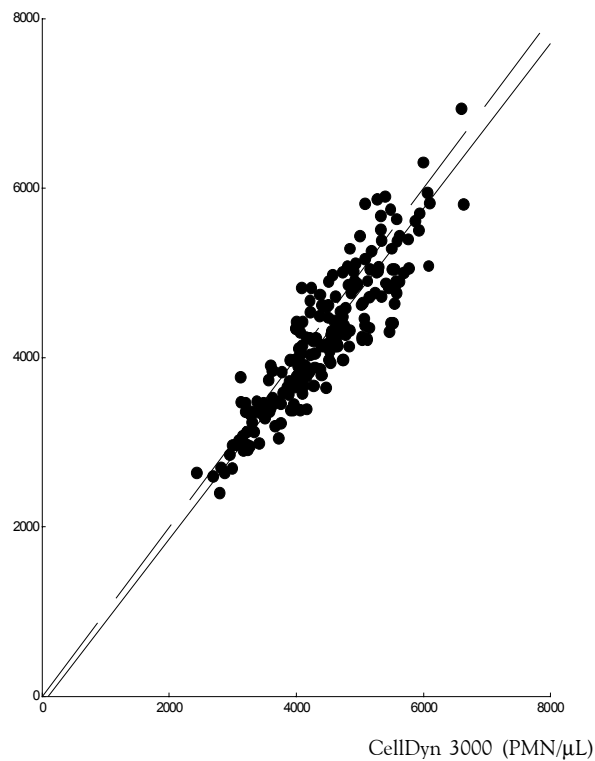
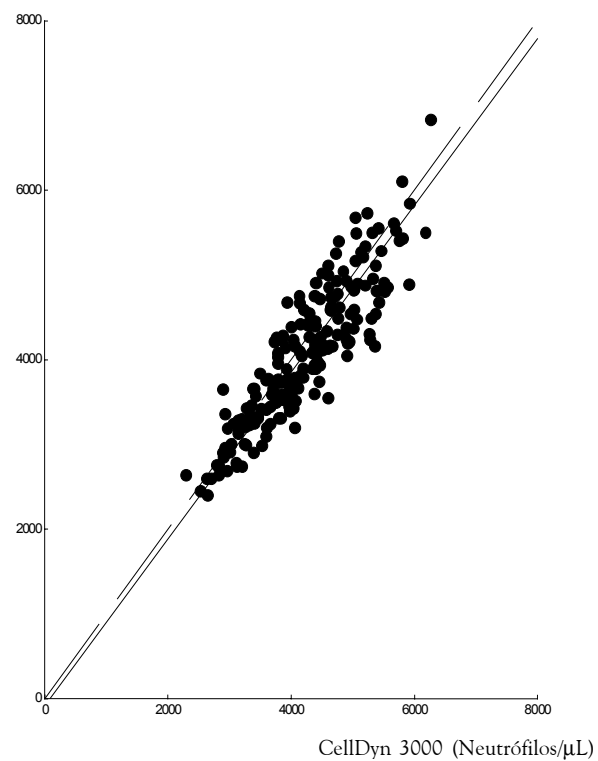
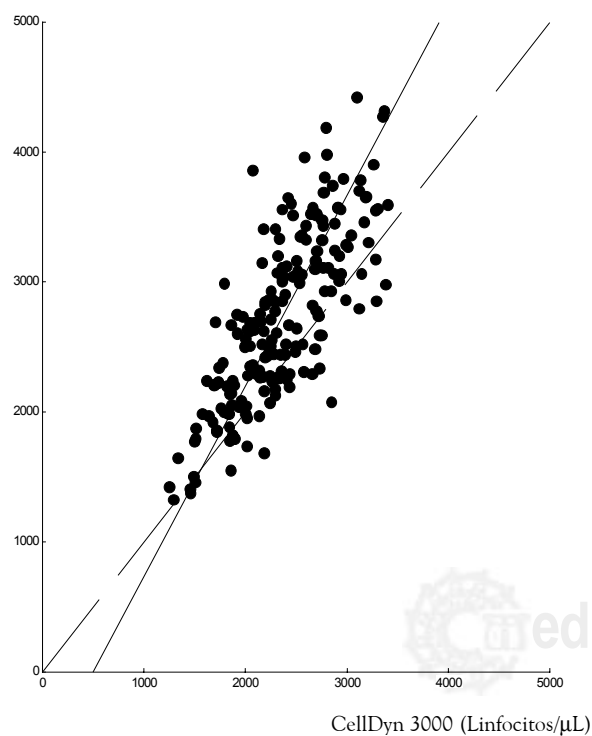
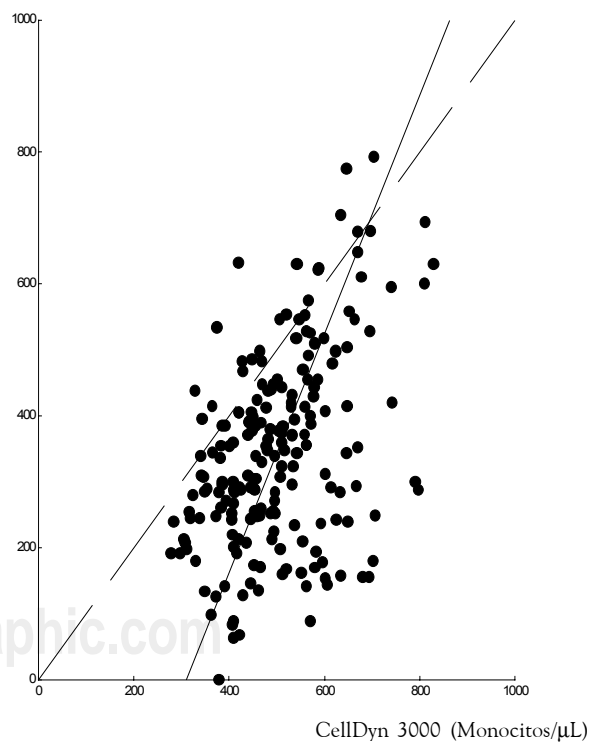
S<sub>y/x</sub> = Desviación estándar de la regresión<sup>a</sup> Diferencia significativa respecto al equipo automatizado;  $p \leq 0.05$ <sup>b</sup> Diferencia significativa de la intersección = 0;  $p \leq 0.05$ <sup>c</sup> Diferencia significativa de la pendiente = 1;  $p \leq 0.05$ 

mostró un sesgo negativo en el recuento de los PMN, sin embargo, las diferencias (evaluadas mediante la prueba *t* para datos pareados) solo fueron estadísticamente significativas para el método longitudinal. La comparación del recuento de N mostró un sesgo negativo con el método longitudinal y positivo con los métodos transversal y de la plumilla, aunque el sesgo sólo fue significativo para el método longitudinal. Respecto a la comparación del recuento de los L, los métodos manuales mostraron sesgos positivos significativos para todos los métodos, mientras que para los M, los métodos mostraron sesgos negativos significativos en todos los casos. En el cuadro 2 también se muestra la variabilidad entre los métodos manuales respecto al automatizado, determinada mediante SDd.

Con la finalidad de describir adecuadamente la relación entre los métodos manuales y el método automatizado, los datos fueron evaluados mediante análisis de correlación lineal y regresión de Deming. Los mayores valores de *r* se obtuvieron para los recuentos de PMN y N con el método de la plumilla (0.950 y 0.945, respectivamente), seguido por el

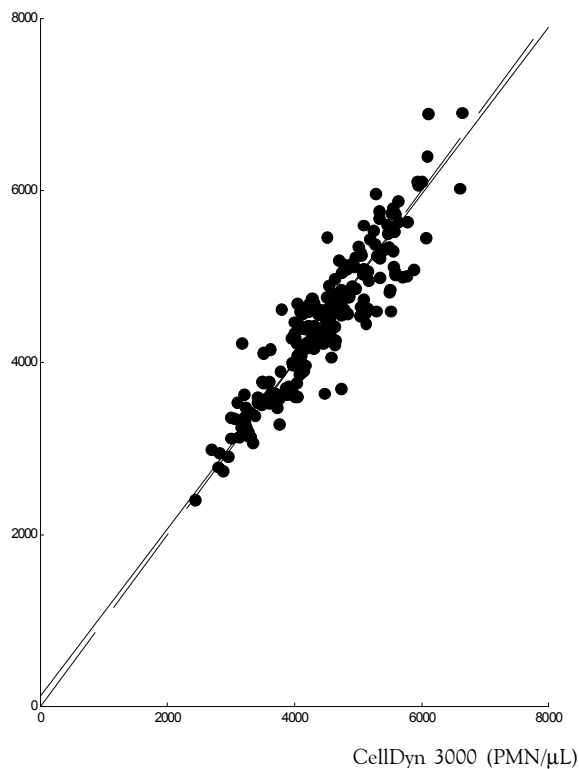
método transversal (0.927 y 0.929). En general, el recuento de L mostró *r* menores a los exhibidos por los PMN y N, aunque como puede observarse en el cuadro 2, los mayores coeficientes de regresión (*r*) se presentaron con los métodos de la plumilla (0.881) y el transversal (0.863). Los menores *r* se presentaron en los recuentos de M, con una correlación de 0.578 y 0.567, por los métodos transversal y de plumilla. El análisis de correlación también puso de manifiesto la existencia de diferencias en la cuenta de cada tipo celular evaluado y el tipo de extensión sanguínea, en este mismo cuadro se muestra que el método de la plumilla presentó los mayores *r* para la cuenta de PMN, N y L, seguido por el método transversal y finalmente el método longitudinal.

Las figuras 1 a 3 muestran gráficamente los resultados del análisis de regresión de Deming. Como puede observarse, los métodos longitudinal, transversal y de la plumilla mostraron un error sistemático proporcional negativo para el recuento de los PMN y N, mientras que para la cuenta diferencial de los L y M, los recuentos de estas células presentaron un error sistemático proporcional positivo, además de la existencia de

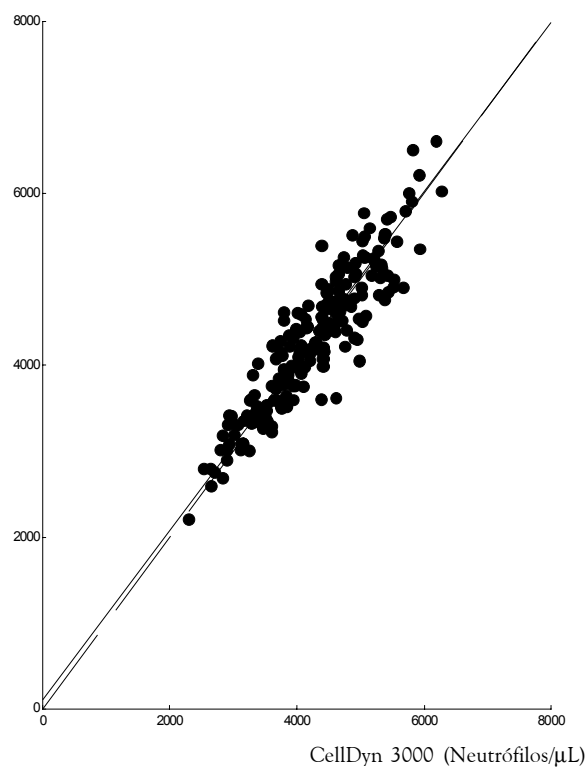
M. Longitudinal  
PMN/ $\mu$ LM. Longitudinal  
Neutrófilos/ $\mu$ LM. Longitudinal  
Linfocitos/ $\mu$ LM. Longitudinal  
Monocitos/ $\mu$ L

**Figura 1.** Regresión de Deming. Comparación del recuento de células polimorfonucleares, neutrófilos, linfocitos y monocitos por el método longitudinal respecto equipo CellDyn 3000.

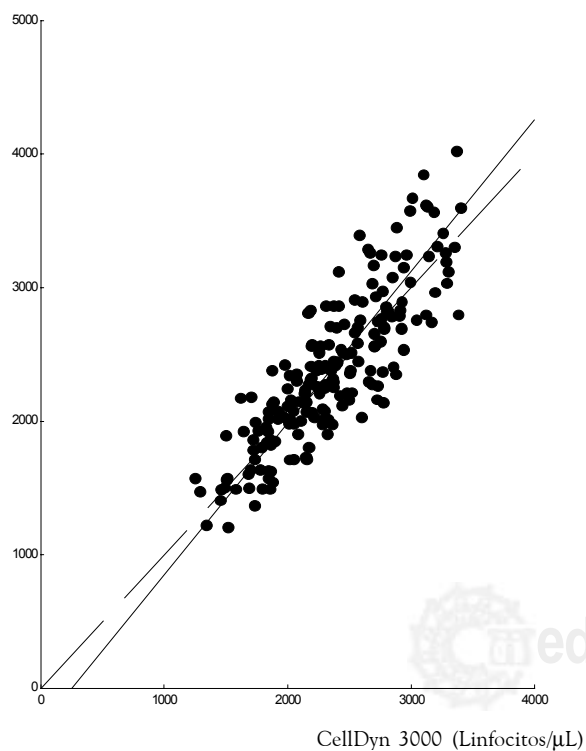
M. Transversal  
PMN/ $\mu$ L



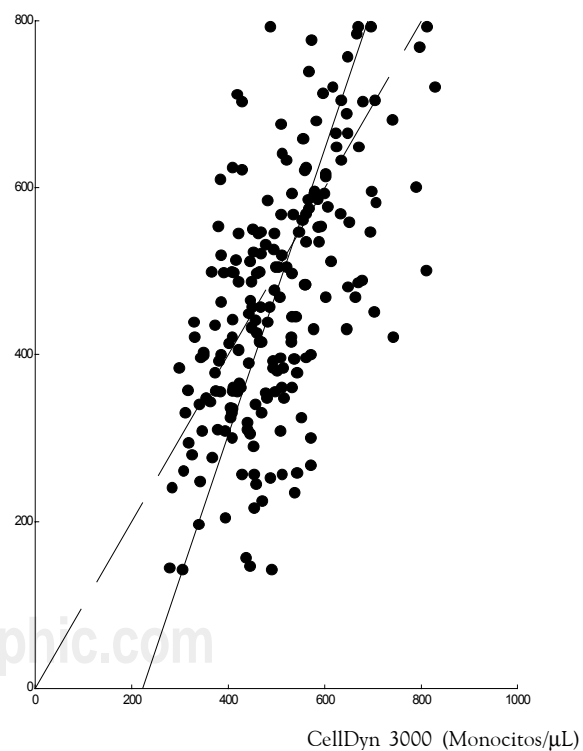
M. Transversal  
Neutrófilos/ $\mu$ L



M. Transversal  
Linfocitos/ $\mu$ L

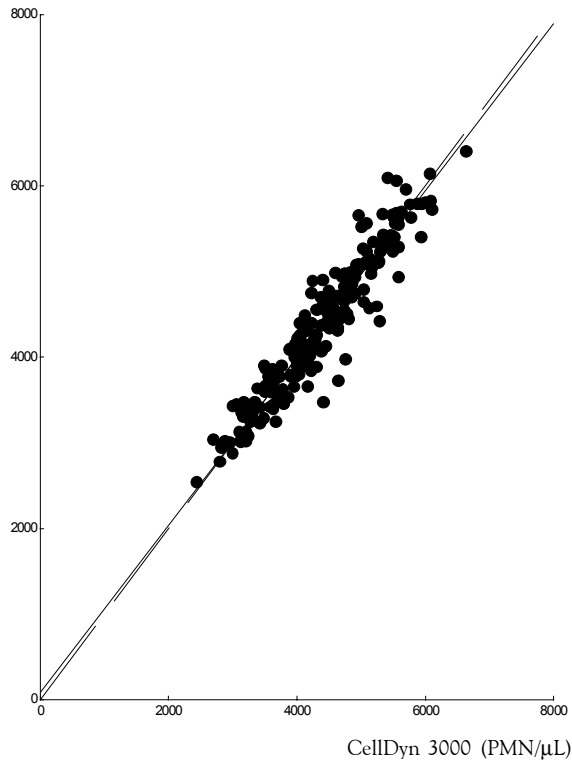


M. Transversal  
Monocitos/ $\mu$ L

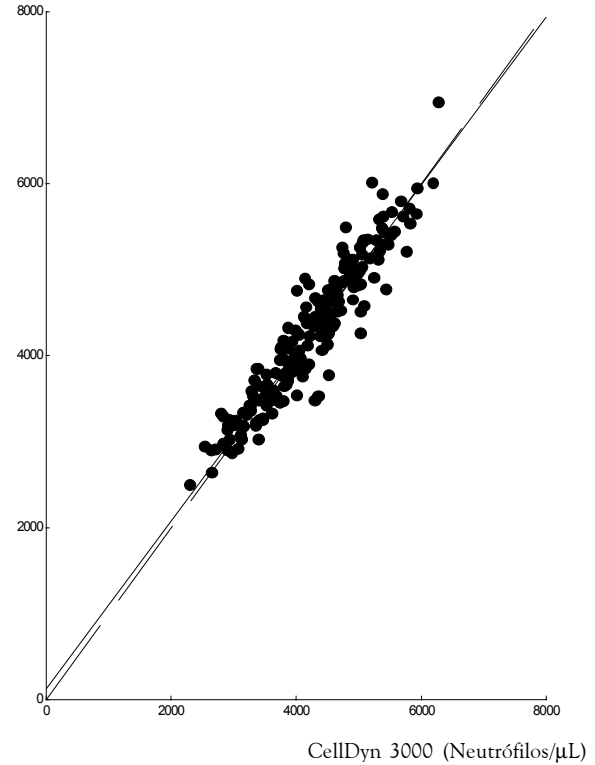


**Figura 2.** Regresión de Deming. Comparación del recuento de células polimorfonucleares, neutrófilos, linfocitos y monocitos por el método transversal respecto equipo CellDyn 3000.

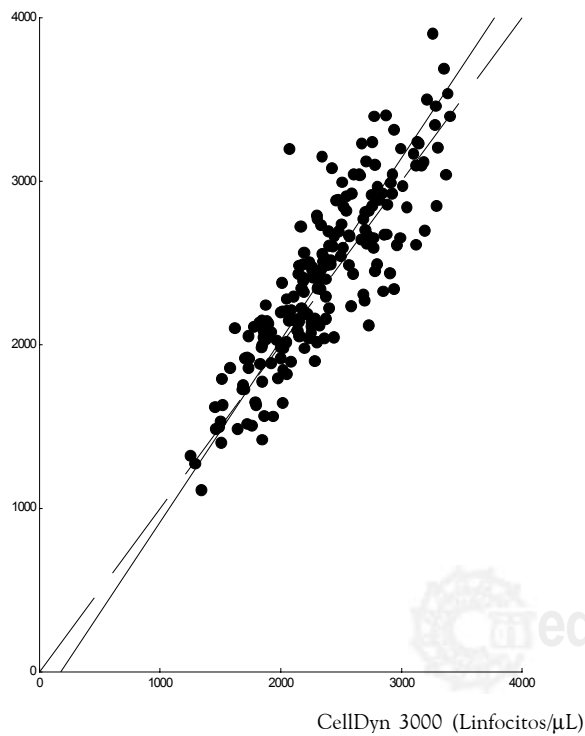
M. de la Plumilla  
PMN/ $\mu$ L



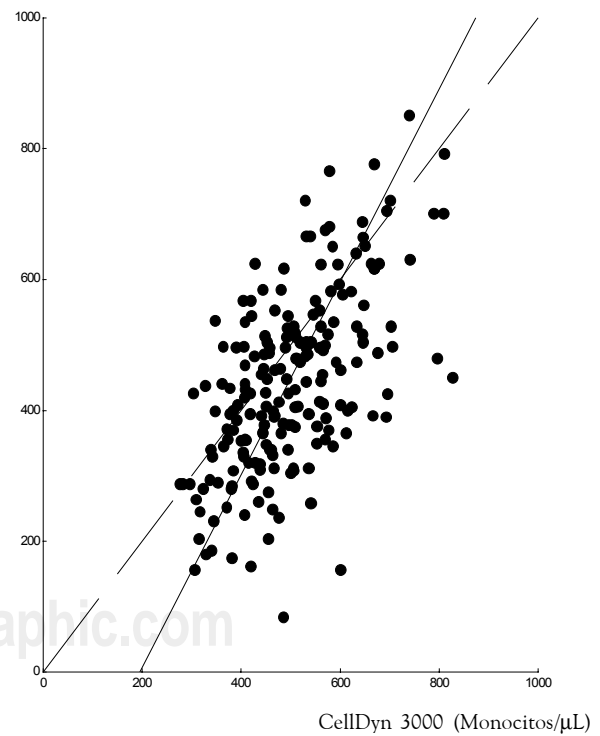
M. de la Plumilla  
Neutrófilos/ $\mu$ L



M. de la Plumilla  
Linfocitos/ $\mu$ L



M. de la Plumilla  
Monocitos/ $\mu$ L



**Figura 3.** Regresión de Deming. Comparación del recuento de células polimorfonucleares, neutrófilos, linfocitos y monocitos por el método de la plumilla respecto equipo CellDyn 3000.



una gran variabilidad en los resultados, lo cual está de acuerdo con los resultados obtenidos para la variabilidad intra-individual. La evaluación cuantitativa del análisis de regresión lineal es mostrada en el cuadro 2, los parámetros estimados incluyeron  $b$ ,  $a$  y el  $Sy/x$ .

## Discusión

Los procedimientos tradicionales empleados para el recuento diferencial de leucocitos, y que están basados en la preparación de extensiones sanguíneas, se caracterizan por un elevado error intrínseco, reflejado por una imprecisión e inexactitud significativa.<sup>3,4</sup> En la actualidad, la variabilidad de los métodos manuales ha sido reducida con el empleo de equipos automatizados capaces de contar un número muy elevado de células por unidad de tiempo, lo que ha disminuido significativamente el error estadístico y de muestreo en los recuentos diferenciales.<sup>5</sup>

En este trabajo se evaluó la variabilidad intra- e inter-individual en tres métodos manuales usados en la preparación de extensiones sanguíneas para el recuento diferencial de leucocitos, y además, se compararon estadísticamente con los resultados de un equipo automatizado.

Los métodos manuales presentaron diferencias de variabilidad entre cada uno de los métodos estudiados, así como entre los diferentes leucocitos evaluados. Independientemente del tipo celular, los métodos transversal y de la plumilla mostraron la menor variabilidad en comparación con el método longitudinal. La variabilidad exhibida por cada tipo leucocitario, estuvo relacionada con su frecuencia en la circulación, los CV intra- e inter-individuales fueron menores para los PMN y N, seguidos por los L y finalmente los M con los mayores CV. Estos resultados sugieren que la preparación manual de las extensiones sanguíneas produce distribuciones celulares poco homogéneas, que aunado a la variabilidad en los sitios de conteo de las extensiones sanguíneas, explican los elevados CV encontrados, particularmente para las células con menor frecuencia y mayor arrastre (por ejemplo: M). En combinación con estos factores, seguramente juega un papel importante la existencia de errores estadísticos y de muestreo, directamente relacionados con el bajo número de células contadas rutinariamente, así como el error de conteo duplicado y la variación del observador al distinguir los diferentes tipos celulares como células en banda de neutrófilos maduros y monocitos, o linfocitos atípicos de linfocitos.<sup>13</sup> Los resultados también mostraron que la preparación de extensiones sanguíneas con las técnicas transversal y de la plumilla, producen extensiones más homogéneas

para aquellas células más frecuentes en circulación, particularmente PMN y N.

Los estudios de comparación de métodos permiten poner de manifiesto la existencia de errores al azar, así como errores sistemáticos constantes y proporcionales entre un método a evaluar respecto a uno de referencia.<sup>14</sup> La comparación estadística de dos métodos esta basada en la información que ofrece el análisis de regresión. Frecuentemente se emplea el análisis de regresión lineal simple, sin embargo, esta prueba presenta deficiencias ya que asume que solo las medidas de  $y$  (método a evaluar) están asociadas con errores al azar, por lo que en muchas ocasiones la pendiente estimada por este método es sesgada, sobretodo cuando el método de referencia muestra una variabilidad significativa. El método estadístico de Deming toma en consideración los errores al azar del método de referencia y el método a evaluar.<sup>15</sup> Recientemente, Linnet<sup>16</sup> ha mostrado la utilidad de esta técnica para evaluar la significación estadística del sesgo de la pendiente.

Debido a que el método seleccionado para comparación (equipo automatizado) no puede ser considerado como un método de referencia libre de errores al azar o sistemáticos, en este trabajo empleamos la regresión de Deming con la finalidad de obtener valores no sesgados de la pendiente.

En este estudio, el análisis gráfico y la regresión de Deming mostraron un error proporcional negativo en la comparación de los métodos manuales respecto al automatizado, para los recuentos de PMN y N, sin embargo, solo el método longitudinal mostró diferencia estadísticamente significativa. Estos resultados indican que los métodos transversal y de la plumilla producen resultados comparables con el equipo automatizado. No obstante que el método longitudinal mostró diferencia significativa respecto al autoanizador, su aceptación o rechazo requiere de una evaluación del error total del método y su comparación con el error límite tolerable de utilidad clínica.<sup>12</sup> Con relación a la comparación de los recuentos de L y M, los métodos manuales presentaron un error proporcional positivo y una variabilidad significativa. Con un número bajo de células, estos métodos tienden a subestimar el recuento de L y M, mientras que con números elevados de células, los métodos sobrestiman los L y M. Estos resultados confirman la existencia de un elevado error intrínseco en la preparación de extensiones sanguíneas para estos tipos celulares.

La correlación entre los métodos manuales y el método automatizado mostró una gran diferencia (variaciones entre 0.329 a 0.950). De acuerdo a los métodos estudiados, los mayores  $r$  se presentaron con los métodos de la plumilla y transversal, y el menor  $r$  con el método longitudinal. Independientemente de los métodos, el  $r$  para cada tipo

celular también varió significativamente, presentándose de mayor a menor, para los PMN, N, L y M. Westgard y Hunt (1973) han mostrado que una elevada variabilidad entre el método a evaluar y el método de referencia (determinada por la  $Sy/x$ ), disminuye  $r$  y aumenta la incertidumbre del valor de  $b$  y  $a$ .<sup>12</sup>

En resumen, los métodos transversal y de la plumilla empleados para el recuento diferencial de los PMN y N, producen resultados estadísticamente indistinguibles a los obtenidos con el equipo automatizado, no así el método longitudinal, el cual mostró un sesgo significativo. Los recuentos de L y M obtenidos a partir de extensiones sanguíneas mostraron errores proporcionales y al azar significativos. Estos resultados confirman la existencia de un elevado error intrínseco en la cuenta de L y M obtenida a partir de extensiones sanguíneas, independientemente del método de preparación empleado.

### Referencias

1. Nelson AD, Morris MW. Examen básico de la sangre. En: Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio. 9ª ed. México: Masson-Salvat Medicina; 1993. p. 571-622.
2. Bauer DJ. Métodos y diagnósticos del laboratorio clínico. 8ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1983. p. 581-97.
3. Lewis SM, Bentley SA. Automated differential counting: the present state of the art. *Br J Hematol* 1977; 35: 481-5.
4. Wintrobe MM. Recuento celular diferencial. En: Hematología clínica. 4ª ed. Buenos Aires: Editorial Intermédica; 1979. p. 243-246.
5. Green AE, Middleton VL, Prentis KG, Sygny AG. A report on experience with an automated blood counting machine. *J Clin Pathol* 1969; 22: 19-27.
6. Pequeno RA. A simple pen method for preparing linear blood films. *Tech Bull Reg Med Technol* 1960; 30: 193-6.
7. Pequeno RA. Improved pen method for preparing and staining lineal blood films for accurate differential leukocyte counts. *Lab-Medica* 1991; March-April: 23-29.
8. Miale JB. Methods and quality control. In: Laboratory medicine hematology. 5ª ed. Saint Louis: C.V. Mosby Co; 1977. p. 1003-5.
9. Manual de procedimientos. *Cell-Dyn 3000*. 7: 57-70.
10. Dacie JV, Lewis SM. Quality assurance. In: Practical hematology. 8ª ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1995. p. 35-47.
11. Linnet K. Necessary sample size for method comparison studies based on regression analysis. *Clin Chem* 1999; 45: 882-894.
12. Westgard JO, Hunt MR. Use and interpretation of common statistical tests in method-comparison studies. *Clin Chem* 1973; 19: 49-57.
13. Bessman JD. White Cells. En: Automated blood counts and differentials: A practical guide. Baltimore: Johns Hopkins University Press; 1986. p. 84-105.
14. Carey RN, Garber CC. Evaluation of methods. In: Clinical chemistry. Theory, analysis, and correlation. 2ª ed. Saint Louis: C.V. Mosby Co; 1989. p. 290-310.
15. Linnet K. Evaluation of regression procedures for methods comparison studies. *Clin Chem* 1993; 39: 424-32.
16. Linnet K. Performance of Deming regression analysis in case of misspecified analytical error ratio in method comparison studies. *Clin Chem* 1998; 44: 1024-31.

