

Granulocitos inmaduros: Valores de referencia empleando analizador SYSMEX XE-2100

Palabras clave: Valores de referencia, granulocitos inmaduros, Sysmex XE-2100

Key words: Reference values, immature granulocytes, Sysmex XE-2100.

Recibido: 01/09/2010
Aceptado: 23/09/2010

Este artículo puede ser consultado en versión completa en: <http://www.medigraphic.com/patologiaclinica>

Klever Sáenz Flor,* Luis Narváez G,* Marcelo Cruz,* Cristina Checa*

* Laboratorio Net-Lab.
Quito, Ecuador.

Correspondencia:
Dr. Klever Sáenz Flor
Laboratorio Net-Lab S.A.
Calle A N 31-145 y Av. Mariana de Jesús.
Quito-Ecuador
Telefax: 00593-2-2920911 (ext 123).
E-mail: kleber.saenz@netlab.com.ec

163

Resumen

Introducción: La biometría hemática automatizada ha tenido innovaciones tecnológicas importantes durante los últimos años. La cuenta de certeza de granulocitos inmaduros es un nuevo parámetro de la cuenta diferencial de glóbulos blancos, basada en la identificación de sus particularidades en la composición de la membrana celular y sus diferentes cantidades de ARN y ADN. El establecer sus valores de referencia permitirá identificar el incremento potencialmente patológico de esta línea celular, con un ensayo de respuesta rápida y de bajo costo.

Material y métodos: Se realizó un estudio epidemiológico descriptivo de conjunto en una muestra de 708 biometrías hemáticas de sujetos de uno u otro sexo, con edades entre 18 y 60 años, remitidas a Net-Lab S.A. (Quito, Ecuador) en los meses de enero y febrero de 2009, todas realizadas en estudios de salud preventiva en contador Sysmex XE-2100.

Resultados: La edad promedio de los sujetos estudiados fue de 34.18 ± 11.7 años, 64.4% de sexo masculino. Los valores de referencia encontrados para la cuenta de granulocitos inmaduros fueron de hasta $0.03 \times 10^3/\text{mm}^3$ y relativos de hasta 0.4%, sin diferencias por género. **Conclusiones:** El hallazgo

Abstract

Introduction: Automated hemograms have undergone numerous technical innovations during the last years. The immature granulocytes count, based on differences in membrane composition and on their higher levels of RNA, is a new parameter in the differential blood cell count. Its advantages include a rapid processing time and low cost. For it to be used as a parameter for clinical analysis, it becomes essential to establish reference «healthy» values so potentially pathological levels can be identified. **Material and methods:** A descriptive epidemiological survey was performed on a convenience sample of 708 hemograms selected from adults of both sexes and ages ranging from 18 to 60 years submitted to Net-Lab S.A. (Quito-Ecuador), received as part of routine health checkups during January and February 2009. We used the blood counter Sysmex XE-2100®. **Results:** The average age of the subjects studied was 34.18 ± 11.7 years, and 64.4% of the subjects were males. Among this apparently healthy population, the reference absolute counts calculated for immature granulocytes ranged between zero and $0.03 \times 10^3/\text{mm}^3$, and the relative counts were between zero and 0.4%, without

idéntico al de un estudio con metodología «a priori» realizado en donantes de sangre sanos en el Hospital Universitario de Leipzig, Alemania, sugiere se puedan transferir estos valores a otras poblaciones.

Introducción

La biometría hemática, uno de los exámenes más solicitados para la evaluación del estado de salud de las personas, ha sufrido durante los últimos años innovaciones tecnológicas importantes, que han sofisticado su reporte, agregando en él indicadores hematológicos nuevos, producto de la incorporación de tecnología como la citometría flujo con marcaje de ADN y ARN que permite identificar el grado de maduración de diferentes líneas celulares.¹

La cuenta diferencial de la población de glóbulos blancos, absoluta y relativa, ha sido de particular interés en la práctica clínica para la toma de decisiones, al igual que la cuenta diferencial de Schilling para la diferenciación de la población granulocítica, realizada sobre un conteo habitual de 100 células de esta línea.^{2,3}

La tecnología actualmente incorporada en los modernos contadores hematológicos supera ampliamente las clásicas técnicas de análisis hematológico, comenzando por el gran número de células analizadas para realizar la cuenta diferencial, así como por la tecnología usada para lograr un diferencial de seis partes.⁴

Las mejoras técnicas implementadas en los contadores hematológicos automatizados les permiten diferenciar los granulocitos segmentados maduros y los neutrófilos en banda de los metamielocitos inmaduros y otras formas jóvenes de la serie mieloide. Esta diferenciación se logra en el canal de inmaduros (IMI Channel) por las diferencias en la composición de la membrana, empleando los principios de radiofrecuencia y corriente directa,⁵ a lo que se suma el hecho de que existe una diferenciación bioquímica, por cuanto los granulocitos inmaduros tienen

significant differences by gender. **Conclusions:** These results were similar to the values reported in a German study made with an «a priori» methodology in healthy blood donors in the University Hospital of Leipzig. Thus, the reference values we identified may be generalizable to other populations.

cantidades mayores de ARN que los segmentados maduros y en banda, lo que los hace más afines a un colorante fluorescente de polimetihine.⁶

Una producción aumentada de las células granulocíticas inmaduras que se liberan a la sangre periférica (promielocitos, mielocitos, metamielocitos) se puede observar en varias condiciones fisiológicas (por ejemplo, mujeres embarazadas, neonatos), patológicas (infecciones bacterianas, síndromes mieloproliferativos especialmente leucemias, mielodisplasias, tumores sólidos, etcétera) o asociadas a intervenciones terapéuticas (por ejemplo, factores estimuladores de colonias).⁷

El número de células inmaduras en sangre periférica es normalmente tan bajo que pasa desapercibido en la cuenta diferencial tradicional realizada en extendido, en donde se observan únicamente entre 100 a 200 células. Por otro lado, los analizadores automatizados con módulos de conteo de certeza de granulocitos inmaduros permiten detectar concentraciones por debajo del 1% en la fórmula relativa y hasta 10 células/ μ L en la absoluta.⁸

El establecimiento de valores de referencia de granulocitos inmaduros en las poblaciones permitirá identificar el incremento potencialmente patológico de esta línea celular que pueda corresponder a una expresión precoz de cualquiera de las condiciones antes descritas.

Material y métodos

Se realizó un estudio epidemiológico, descriptivo de conjunto, para el cálculo de valores de referencia de granulocitos inmaduros absolutos y relativos, empleando metodología «a posteriori».

Se seleccionó una muestra propositiva de 708 biometrías hemáticas provenientes de estudios

de medicina preventiva en personas aparentemente sanas, que se enviaron a Net-Lab SA, un laboratorio de derivación de muestras con Certificación ISO 9001:2000 localizado en la ciudad de Quito, Ecuador, en los meses de enero y febrero del 2009.

Las biometrías hemáticas se realizaron en contador hematológico Sysmex SE-2100, el cual se encuentra dentro de programas de control interno (diario x 3 niveles) y externo (Sysmex Insight), con un coeficiente de variación promedio en esos meses para cuenta de granulocitos inmaduros absolutos y relativos de 6.4 y 5.8%, respectivamente; y con un índice de desvío promedio de 0.3 y -0.2 S para cuenta absoluta y relativa de granulocitos inmaduros, respectivamente.

El algoritmo de cálculo de valores de referencia respeta lo recomendado por el protocolo NC-CLS C28-A2, donde se recomienda un tamaño muestral mínimo de 120 sujetos por grupo de partición.⁹ Se eliminaron los valores aberrantes «outliers», empleando criterios de intervalos intercuartiles (gráfica de cajas y bigotes). Para decidir la necesidad de partición por género, se aplicó prueba t de diferencia de promedios, previa aplicación de prueba F; en el caso de distribuciones no paramétricas, para el cálculo de las diferencias se usó la prueba U de Mann-Whitney, considerando en ambos casos un nivel de significación del 95% ($\alpha = 0.05$).

Los valores de referencia se calcularon considerando el 95% central de la distribución, usando como límites inferior y superior del valor de referencia los percentiles 2.5 y 97.5, respectivamente.

Resultados

Se analizaron los resultados de un total de 708 biometrías hemáticas de sujetos que acudieron a realizarse análisis de laboratorio en el marco de programas de medicina preventiva, de los cuales 64.4% (n = 456) fueron de sexo masculino. La edad promedio de la muestra general fue 34.18

Cuadro I. Comportamiento indicadores cuenta diferencial. Muestra general y por sexo.

Parámetros	General (n = 708)			Hombres (n = 456)			Mujeres (n = 252)		
	$\bar{x} \pm DE$	p2.5	p97.5	$\bar{x} \pm DE$	p2.5	p97.5	$\bar{x} \pm DE$	p2.5	p97.5
WBC /mm ³	7,079.4 ± 1,689	4,215.3	10,683	7,061.63 ± 1,723.5	4,069.75	10,874.2	7,111.5 ± 1,629.7	4,279.8	19,714.8
Linfocitos /mm ³	2,638.8 ± 642.6	1,520.2	4,041.8	2,719.24 ± 652.76	1,556.68	4,134.6	2,493.2 ± 598.2	1,398.9	3,871.4
Linfocitos %	38.1 ± 8.1	21.8	54.1	39.3 ± 8	22.6	54.9	35.8 ± 7.7	20	51.6
Neutrófilos /mm ³	3,734.2 ± 1,356.2	1,727.6	6,986	3,622.6 ± 1,355.4	1,672.2	6,588.9	3,936 ± 1,336.9	1,936.9	7,440.3
Neutrófilos %	51.8 ± 8.7	34.6	69.4	50.38 ± 8.5	33.7	67.6	54.5 ± 8.5	35.9	72.1
Monocitos /mm ³	487.7 ± 145.3	262.7	835.5	491.9 ± 149.8	280.4	867.9	480.2 ± 136.8	253.9	759.7
Monocitos %	6.9 ± 1.6	4.3	10.6	7.03 ± 1.5	4.4	10.6	6.9 ± 1.7	4.1	10.9
Eosinófilos /mm ³	186.13 ± 175	32	660.3	194.9 ± 173.5	35.12	663.9	170.3 ± 176.9	30.3	698.4
Eosinófilos %	2.6 ± 2.2	0.5	8.9	2.8 ± 2.2	0.54	9.3	2.4 ± 2.1	0.4	8.8
Basófilos /mm ³	32.6 ± 18.7	7.0	79.7	33.1 ± 18.1	8	74.2	31.8 ± 19.7	7	87.03
Basófilos %	0.47 ± 0.27	0.1	1.1	0.48 ± 0.26	0.1	1.1	0.47 ± 0.3	0.1	1.2
GI x 10 ³ /mm ³	0.018 ± 0.018	0	0.063	0.02 ± 0.02	0	0.07	0.01 ± 0.01	0	0.05
GI %	0.23 ± 0.21	0	0.728	0.26 ± 0.224	0	0.9	0.19 ± 0.16	0	0.6

Abreviaturas: WBC = Cuenta de glóbulos blancos. GI = Granulocitos inmaduros. DE = Desviación estándar.

± 11.7 años (rango: 18 a 60 años), siendo para los hombres de 35.2 ± 11.98 años y para las mujeres de 32.4 ± 11.2 años ($p < 0.05$).

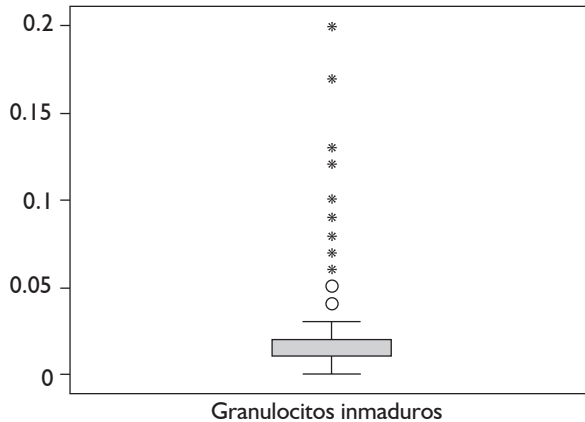


Figura 1. Distribución de granulocitos inmaduros. Muestra general.

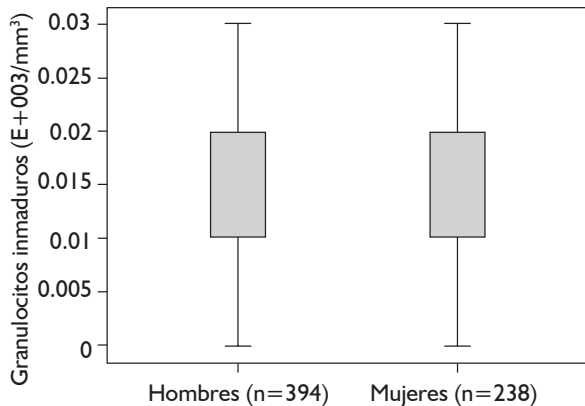


Figura 2. Distribución de conteo de granulocitos inmaduros por sexo.

El comportamiento observado en la cuenta de glóbulos blancos y fórmula diferencial absoluta y relativa se presenta en el *cuadro I*.

La distribución de granulocitos inmaduros en la muestra general, se presenta en la *figura 1*.

Realizada la limpieza de «outliers», la base efectiva de análisis fue de 632 sujetos; de los cuales, 62.3 % ($n = 394$) fueron de sexo masculino, con edad promedio de 34.2 ± 11.7 años (rango: 18 a 60 años).

La distribución de granulocitos inmaduros desagregada por sexo, se presenta en la *figura 2*.

Los promedios y las distribuciones percentilares de la cuenta absoluta y relativa de granulocitos inmaduros tanto para muestra general, así como desagregado por sexo, se muestran en el *cuadro II*.

La distribución absoluta y relativa de granulocitos inmaduros en la «población de referencia» se presenta en las *figuras 3 y 4*.

Las muestras que fueron calificadas como «outliers» ($n = 76$) mostraron un promedio de cuenta absoluta de granulocitos inmaduros de $0.06 \pm 0.029 \times 10^3/\text{mm}^3$ y un porcentaje promedio de $0.64 \pm 0.327\%$ (*figura 5*).

Los promedios de la cuenta total de glóbulos blancos, así como de su cuenta diferencial por condición de «outliers» frente a «población de referencia», se analizan en el *cuadro III*.

Discusión

Los valores de referencia de magnitudes biológicas, pueden estar asociados con condiciones de

Cuadro II. Granulocitos inmaduros absolutos ($\times 10^3/\text{mm}^3$) y relativos. Muestra general y por sexo.

Indicador	Absolutos ($\times 10^3/\text{mm}^3$)			Relativos (%)		
	$\bar{x} \pm \text{DE}$	p2.5	p97.5	$\bar{x} \pm \text{DE}$	p2.5	p97.5
General	0.01 ± 0.008	0	0.03	0.19 ± 0.115	0	0.4
Hombres ($n = 394$)	0.01 ± 0.008	0	0.03	0.2 ± 0.120	0	0.4
Mujeres ($n = 238$)	0.01 ± 0.008	0	0.03	0.17 ± 0.105	0	0.4
p*		> 0.05			> 0.05	

DE = Desviación estándar. * Prueba de U de Mann-Whitney.

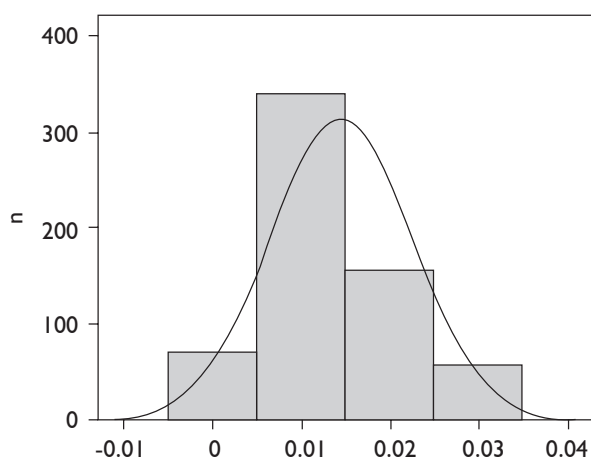


Figura 3. Distribución absoluta de granulocitos inmaduros. Muestra general.

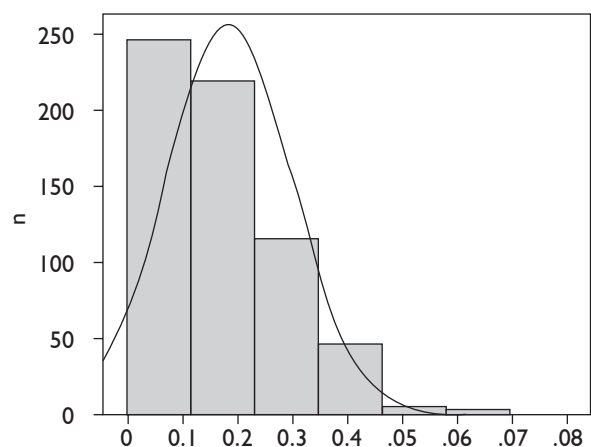


Figura 4. Distribución relativa de granulocitos inmaduros. Muestra general.

salud o con cualquier otra condición fisiológica o patológica y pueden ser usados por diferentes razones.⁹ En un contexto clínico, los «valores normales», reflejan aquéllos en los cuales un individuo se encuentra «sano» o tiene pocas probabilidades de encontrarse enfermo.¹⁰ Al ser la condición de salud de un individuo, desde el comportamiento de sus indicadores biológicos, un hecho relativo y no absoluto, por cuanto depende de la comparación de los hallazgos realizados de frente a valores de referencia obtenidos de poblaciones de referencia,

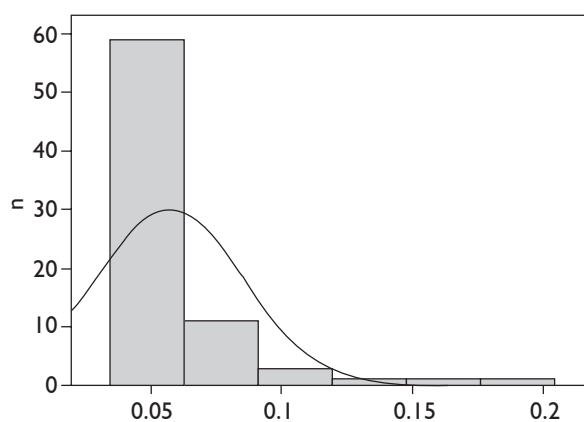


Figura 5. Distribución absoluta de granulocitos inmaduros. Población «outliers».

es recomendable que cada laboratorio establezca valores propios ajustados a su población de atención.⁹⁻¹¹ Este hecho es particularmente relevante cuando se trata de parámetros que tienen un alto valor diagnóstico y/o pronóstico, y que pueden ser provistos para su uso clínico de manera rápida y con bajo costo para el sistema de salud. Tal es el caso de la cuenta de certeza de granulocitos inmaduros, «la sexta población», una nueva parte de la cuenta diferencial de glóbulos blancos, disponible en algunos contadores hematológicos de última generación.⁴

Varios reportes han demostrado el uso de la cuenta de certeza de granulocitos inmaduros para el seguimiento y monitoreo de pacientes con procesos infeccioso-bacterianos severos, habiéndose encontrado buena correlación entre él y otros marcadores de inflamación, como la velocidad de eritrosedimentación y la proteína C reactiva. De igual manera, valores de granulocitos inmaduros sobre 100/mL o de 1% en fórmula relativa son indicativos de inflamación aguda y por sobre 3% con procesos inflamatorios severos e infección sistémica, siendo un mejor predictor de infección que la cuenta absoluta de glóbulos blancos.^{12,13}

El presente estudio muestra valores de referencia absolutos de granulocitos inmaduros de hasta $0.03 \times 10^3/\text{mm}^3$ y relativos de hasta 0.4%, sin que

Cuadro III. Comportamiento de indicadores de conteje diferencial entre población de referencia y outliers.

Parámetros	Referencia (n = 632)	Población Outliers (n = 76)	p
WBC /mm ³	6,876.4 ± 1,490.7	8,767.9 ± 2,232.88	< 0.05*
Linfocitos /mm ³	2,612.9 ± 630.2	2,854 ± 706.5	< 0.05*
Linfocitos %	38.6 ± 7.9	33.5 ± 7.8	< 0.05*
Neutrófilos /mm ³	3,577.4 ± 1,192.9	5,038.2 ± 1,853.3	< 0.05*
Neutrófilos %	51.3 ± 8.6	56.5 ± 8.4	< 0.05*
Monocitos /mm ³	472.1 ± 131.9	617.3 ± 183.7	< 0.05*
Monocitos %	6.9 ± 1.6	7.13 ± 1.7	> 0.05*
Eosinófilos /mm ³	182.1 ± 167.1	219.9 ± 229.6	> 0.05*
Eosinófilos %	2.65 ± 2.2	2.5 ± 2.2	> 0.05**
Basófilos /mm ³	31.9 ± 18.5	37.8 ± 19.5	> 0.05**
Basófilos %	0.48 ± 0.3	0.45 ± 0.24	> 0.05**
GI x10 ³ /mm ³	0.01 ± 0.008	0.06 ± 0.03	< 0.05***
GI %	0.19 ± 0.115	0.64 ± 0.327	< 0.05***

Abreviaturas: WBC = Cuenta de glóbulos blancos. GI = Granulocitos inmaduros. * Diferencia estadísticamente significativa (t de Student) .

** Sin diferencia estadísticamente significativa (U Mann-Whitney). *** Diferencia estadísticamente significativa (U Mann-Whitney).

se hayan evidenciado diferencias significativas que justifiquen su partición por sexo en personas con edades comprendidas entre 18 y 60 años; hallazgo idéntico al reportado en un estudio de cálculo de valores de referencia con metodología «a priori» realizado en donantes de sangre sanos en el Hospital Universitario de Leipzig, Alemania.⁵

Además de analizar los valores de referencia en la población tamizada luego de la limpieza de valores aberrantes «outliers», se evaluó también el comportamiento de la cuenta de granulocitos inmaduros, así como de la cuenta diferencial de glóbulos blancos en la población excluida (outlier), habiéndose encontrado contejes significativamente superiores de cuenta de glóbulos blancos, linfocitos y neutrófilos, absolutos y relativos, así como de granulocitos inmaduros, al compararlos frente a los valores obtenidos en la «población de referencia», lo que demuestra que la metodología estadística de limpieza de datos basada en criterios de intervalos intercuartiles fue útil para eliminar sujetos con potenciales estados inflamatorio/infecciosos que podían haber afectado el cálculo del valor

de referencia, por cuanto su promedio absoluto de granulocitos inmaduros fue de $0.06 \pm 0.03 \times 10^3/\text{mm}^3$.

Al parecer, los valores de referencia de granulocitos inmaduros no difieren entre poblaciones, dado que los hallazgos de este estudio realizado en población altoandina ecuatoriana arroja resultados idénticos a los encontrados por Bueguel M y colaboradores en donantes sanos en Alemania, pese a que se trata de poblaciones geográfica y étnicamente diferentes, a lo que suma el hecho de que se emplearon dos metodologías diferentes de cálculo, la una «a priori» y la otra «a posteriori» sobre un número de sujetos muy diferente, 632 en este estudio y 156 donantes voluntarios en el estudio alemán, lo que hace presumir que estos valores de referencia pueden fácilmente ser transferidos a otro tipo de poblaciones.

Si bien resulta importante el contar con valores de referencia de este novel parámetro hematológico, aún queda pendiente realizar un mayor número de aproximaciones que permitan evaluar su uso como un indicador de diagnóstico, pronóstico y monitoreo de infecciones bacterianas sistémicas en diferentes tipos de poblaciones atendidas.

Referencias

1. Briggs, C. Quality counts: New parameters in blood cell counting. *Internat J Lab Hematol* 2009; 31: 277-297.
2. Krause, JR. The automated white blood cell differential. A current perspective. *Hematol Oncol Clin North Am* 1994; 8: 617-629.
3. Gulati, GL y Hyun, BH. The automated CBC. A current perspective. *Hematol Oncol Clin North Am* 1994; 8: 593-603.
4. Zwik, D. Pathology and Laboratory Medicine Newsletter. www.childrens-mercy.org [En línea] Junio de 2007. <http://www.childrens-mercy.org/Content/view.aspx?id=2727>.
5. Bruegel M, Fielder GM, Matthes G, Thierry J. Reference Values for Immature Granulocytes in Healthy Blood Donors Generated on the Sysmex XE-2100 Automated Hematology Analyzer. *Sysmex J Internat* 2004; 14: 5-7.
6. Field D, Taube E, Heumann S. Performance evaluation of immature granulocyte parameter on Sysmex XE - 2100 automated hematology analyzer. *Lab Heme* 2006; 11-14.
7. Piva E, Pasini L. Innovations on automated enumeration of immature granulocytes. *RIMeL-IJLaM* 2008; 4 (3, supl 1): 102 - 103.
8. Weiland T, Kalkman H, Heihn H. Evaluation of automated immature granulocyte parameter on Sysmex XE-2100 automated hematology analyzer versus visual microscopy (NCCLS H20A). *Sysmex Internat J* 2002; 12: 63-70.
9. NCCLS. How to define and determine intervals in the clinical. 2nd ed. NCCLS document C28A2, 2000.
10. Fraser CG. Biological variation: From principles to practice. USA: American Association of Clinical Chemistry (AACC); 2001. p. 91-92, 104-109.
11. ISO/IEC 15189:2007. Laboratorios Clínicos - Requisitos particulares para la calidad y la competencia. 2007.
12. Briggs C et al. Evaluation of immature granulocyte counts by XE-IG master: upgraded software for the XE2100 automated hematology analyzer. *Lab Hem* 2003; 9: 117-124.
13. Ansari-Lari MA, Kinkler TS, Borowitz MJ. Immature granulocyte measurement using the Sysmex XE2100: relationship to infection and sepsis. *Am J Clin Path* 2003; 120: 795-799