



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

CUAUTILÁN

**VERIFICACIÓN Y VALIDACIÓN DE MÉTODOS CUANTITATIVOS
EN LOS EQUIPOS CELLDYN 3700 DEL DEPARTAMENTO DE
HEMATOLOGÍA DEL LABORATORIO DE REFERENCIA
INTERNACIONAL CARPERMOR**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

ARIANA NOEMI HERNÁNDEZ MERCADO

ASESORA:

Q.F.B. MARÍA DE LOURDES GALVÁN RUIZ



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUELLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos a comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Verificación y validación de métodos cuantitativos en los equipos CELLDYN 3700 del Departamento de Hematología del Laboratorio de Referencia Internacional Carpermor

Que presenta la pasante: Ariana Noemi Hernández Mercado

Con número de cuenta: 303856300 para obtener el Título de: Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 13 de Agosto de 2014.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M.E. Fernando Flores Benitez	
VOCAL	QFB. René Damián Santos	
SECRETARIO	QFB. Ma. de Lourdes Galván Ruiz	
1er. SUPLENTE	M. en C. Gloria Leticia Arellano Martínez	
2do. SUPLENTE	Q. Lidia Elena Ballesteros Hernández	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).



AGRADECIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento a mi universidad, UNAM, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, donde pase cinco años de mi vida llenándome de conocimiento para llegar a este momento.

A mis padres Verónica y Heriberto que me han dado todo su cariño y apoyo, que sin sus enseñanzas y consejos no hubiera logrado esta meta.

A mi dulce José Daniel, el cual significa todo en esta vida para mí, y quien es mi luz en los momentos de oscuridad.

A mis hermanas Claudia y Verónica que aunque tenemos nuestras diferencias siempre nos apoyaremos, porque nos queremos.

A mi asesora Q.F.B. María de Lourdes Galván Ruiz, por el tiempo dedicado en instruirme y aconsejarme para la elaboración y culminación de este trabajo.

Al Q.F.B. Pablo Díaz Piedra quien me dio la tarea de realizar la validación y verificación de métodos cuantitativos en equipos del departamento de hematología del laboratorio de referencia internacional Carpermor.

A mi jurado por dedicarme parte de su tiempo para revisar y enriquecer este trabajo.



INDICE

Índice de figuras	IV
Índice de tablas	V
Índice de gráficos	IX
Abreviaturas	X
Resumen	1
Introducción	2
I. Biometría Hemática.....	3
I.1 Fórmula roja.....	3
I.2 Fórmula blanca.....	7
I.3 Plaquetas.....	14
II. Sistema automatizado CELLDYN 3700.....	15
II.1 Descripción y fundamento del ciclo de análisis de las muestras.....	17
II.1.1 Impedancia eléctrica para conteo de eritrocitos y plaquetas.....	17
II.1.2 Análisis de la hemoglobina.....	20
II.1.3 Impedancia eléctrica aplicada al conteo y clasificación de células blancas.....	22
II.1.4 Conteo óptico de leucocitos por tecnología “MAPSS“.....	23
II.1.5 Análisis de datos con la tecnología MAPSS.....	26
III. Acreditación de laboratorios clínicos.....	29
IV. Importancia de la validación.....	29
V. Criterios para la validación y la verificación de los métodos cuantitativos en CELLDYN 3700.....	31
V.1 Linealidad (intervalo analítico).....	31
V.2 Precisión.....	32
V.3 Veracidad.....	33



V.4 Incertidumbre.....	35
V.5 Acarreo o arrastre.....	35
V.6 Correlación.....	35
Justificación.....	36
Objetivos.....	37
Diagrama de trabajo.....	38
Metodología	
Linealidad.....	39
Precisión.....	42
Arrastre o acarreo.....	43
Veracidad por error relativo y porcentaje de recuperación.....	45
Veracidad por comparación de métodos.....	46
Correlación.....	48
Resultados.....	49
Linealidad.....	49
Precisión.....	65
Arrastre o acarreo.....	69
Veracidad por error relativo y porcentaje de recuperación	73
Veracidad por comparación de métodos.....	77
Correlación	87
Discusión.....	97
Conclusiones.....	101
Recomendaciones.....	103
Referencias.....	104



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representación esquemática de los componentes celulares de la sangre y los porcentajes.	2
Figura 2. Eritrocito maduro.....	3
Figura 3. Representación esquemática del proceso de maduración del eritrocito.....	4
Figura 4. Esquema general de la granulopoyesis.....	8
Figura 5. Esquema que muestra el proceso de linfopoyesis.....	11
Figura 6. Representación del un eosinófilo.....	12
Figura 7. Representación de un Basófilo.....	13
Figura 8. Representación de un megacariocito y la liberación de plaquetas.....	14
Figura 9. Representación del impulso eléctrico generado cuando pasa un eritrocito.....	18
Figura 10. Diagrama de la generación del histograma de RBC.....	18
Figura 11. Diagrama del histograma de RBC.....	19
Figura 12. Representación de las células antes y después del reactivo lisante.....	22
Figura 13. Representación del histograma de leucocitos por impedancia.....	23
Figura 14. Representación de la dispersión del laser para la clasificación de leucocitos.....	25
Figura 15. Gráfico de dispersión para la separación de las células mononucleares polimorfonucleares.....	26
Figura 16. Gráfico de dispersión para la separación de polimorfonucleares y eosinófilos.....	27
Figura 17. Grafico de dispersión para la separación de mononucleares.....	27
Figura 18. Diagrama del escatograma principal del CELLDYN 3700.....	28
Figura 19. Proceso de acreditación NMX EC 15189 IMNC 2006.....	30
Figura.20 Relación entre los distintos tipos de error y los correspondientes conceptos.....	33



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Preparación de las diluciones para evaluar la linealidad.....	39
Tabla 2. Ejemplo de la tabla de resultados para las diluciones al evaluar la linealidad.....	40
Tabla3. Ejemplo para visualizar la concentración teórica de las diluciones.....	41
Tabla 4. Ejemplo para reportar la cuantificación de errores en el intervalo reportable.....	41
Tabla 5. Ejemplo para reportar precisión.....	42
Tabla 6. Ejemplo para reportar el promedio “bajo-bajo”.....	43
Tabla 7. Ejemplo para el reporte de la media “alto -bajo”.....	44
Tabla 8. Ejemplo diferencia de medias	44
Tabla 9. Ejemplo para reportar la veracidad.....	45
Tabla 10. Ejemplo para reportar los resultaos por comparación de métodos.....	46
Tabla 11. Media de los controles para los parámetros evaluados.....	49
Tabla 12. Concentración teórica de las diluciones para la evaluación de linealidad en leucocitos.....	49
Tabla 13. Resultados obtenidos en la evaluación de linealidad en leucocitos.....	50
Tabla 14. Cuantificación del error en el intervalo reportable para leucocitos.....	51
Tabla 15. Concentración teórica de las diluciones para la evaluación de linealidad en eritrocitos.....	52
Tabla 16. Resultados obtenidos en la evaluación de linealidad para eritrocitos.....	53
Tabla 17. Cuantificación del error en el intervalo reportable para eritrocitos.....	54
Tabla 18. Concentración teórica de las diluciones para evaluar la linealidad de hemoglobina.....	55
Tabla 19. Resultados obtenidos en la evaluación de linealidad para hemoglobina.....	56
Tabla 20. Cuantificación del error en el intervalo reportable para hemoglobina.....	57



Tabla 21. Resultados teóricos de las diluciones para la evaluación de linealidad del VCM.....	58
Tabla 22. Resultados obtenidos en la evaluación de linealidad para VCM.....	59
Tabla 23. Cuantificación del error en el intervalo reportable para VCM.....	60
Tabla 24. Concentración teórica de las diluciones para la evaluación de la linealidad en plaquetas.....	61
Tabla 25. Resultados obtenidos en la evaluación de linealidad en plaquetas.....	62
Tabla 26. Cuantificación del error en el intervalo reportable en plaquetas.....	63
Tabla 27. Precisión control alto equipo 3410.....	65
Tabla 28. Precisión control bajo equipo 3410.....	65
Tabla 29. Precisión control alto equipo 3411.....	66
Tabla 30. Precisión control bajo equipo 3411.....	66
Tabla 31. Precisión control alto equipo 3431.....	67
Tabla 32. Precisión control bajo equipo 3431.....	67
Tabla 33. Precisión control alto equipo 3432.....	68
Tabla 34. Precisión control bajo equipo 3432.....	68
Tabla 35. Resultados obtenidos de la secuencia de arrastre equipo 3410.....	69
Tabla 36. Promedio “bajo-bajo” equipo 3410.....	69
Tabla 37. Promedio “alto-bajo” equipo 3410.....	69
Tabla 38. Diferencia de medias equipo 3410.....	69
Tabla 39. Resultados obtenidos de la secuencia de arrastre equipo 3411.....	70
Tabla 40. Promedio “bajo-bajo” equipo 3411.....	70
Tabla 41. Promedio “alto-bajo” equipo 3411.....	70
Tabla 42. Diferencia de medias equipo 3411.....	70
Tabla 43. Resultados obtenidos de la secuencia de arrastre equipo 3431.....	71
Tabla 44. Promedio “bajo-bajo” equipo 3431.....	71



Tabla 45. Promedio “alto-bajo” equipo 3431.....	71
Tabla 46. Diferencia de medias equipo 3431.....	71
Tabla 47. Resultados obtenidos de la secuencia de arrastre equipo 3432.....	72
Tabla 48. Promedio “bajo-bajo” equipo 3432.....	72
Tabla 49. Promedio “alto-bajo” equipo 3432.....	72
Tabla 50. Diferencia de medias equipo 3432.....	72
Tabla 51. Rangos del control normal para la veracidad.....	73
Tabla 52. Veracidad por error relativo y porcentaje de recuperación equipo 3410.....	73
Tabla 53. Veracidad por error relativo y porcentaje de recuperación equipo 3411.....	74
Tabla 54. Veracidad por error relativo y porcentaje de recuperación equipo 3431.....	75
Tabla 55. Veracidad por error relativo y porcentaje de recuperación equipo 3432.....	76
Tabla 56. Delta de los resultados obtenidos por comparación de método para leucocitos.....	77
Tabla 57. Delta de los resultados obtenidos por comparación de método para eritrocitos.....	79
Tabla 58. Delta de los resultados obtenidos por comparación de método para hemoglobina.....	81
Tabla 59. Delta de los resultados obtenidos por comparación de método para VCM.....	83
Tabla 60. Delta de los resultados obtenidos por comparación de método para plaquetas.....	85
Tabla 61. Resultados obtenidos para WBC en los cinco sistemas automatizados.....	87
Tabla 62. Resultados obtenidos para RBC en los cinco sistemas automatizados.....	89



Tabla 63. Resultados obtenidos para HGB en los cinco sistemas automatizados.....	91
Tabla 64. Resultados obtenidos para VCM en los cinco sistemas automatizados.....	93
Tabla 65. Resultados obtenidos para PLT en los cinco sistemas automatizados.....	95
Tabla 66. Coeficientes de variación establecidos por el fabricante.....	98
Tabla 67. Arrastre para WBC, RBC, HGB, PLT establecido por el fabricante.....	100



ÍNDICE DE GRÁFICOS

Grafico 1. Linealidad de leucocitos.....	52
Grafico 2. Linealidad de eritrocitos.....	55
Grafico 3. Linealidad de la hemoglobina.....	58
Grafico 4. Linealidad del VCM.....	61
Grafico 5. Linealidad en plaquetas.....	64
Grafico 6. Concordancia de leucocitos por comparación de métodos.....	78
Grafico 7. Correlación de leucocitos por comparación de método.....	78
Grafico 8. Concordancia de eritrocitos por comparación de métodos.....	80
Grafico 9. Correlación de eritrocitos por comparación de método.....	80
Grafico 10. Concordancia de hemoglobina por comparación de métodos.....	82
Grafico 11. Correlación de hemoglobina por comparación de método.....	82
Grafico 12. Concordancia en VCM por comparación de métodos.....	84
Grafico 13. Correlación en VCM por comparación de método.....	84
Grafico 14. Concordancia de plaquetas por comparación de métodos.....	86
Grafico 15. Correlación de plaquetas por comparación de método.....	86
Grafico 16. Correlación de WBC en los 4 sistemas automatizados CELLDYN 3700.....	88
Grafico 17. Correlación de RBC en los 4 sistemas automatizados CELLDYN 3700.....	90
Grafico 18. Correlación de HGB en los 4 sistemas automatizados CELLDYN 3700.....	92
Grafico 19. Correlación de VCM en los 4 sistemas automatizados CELLDYN 3700.....	94
Grafico 20. Correlación de PLT en los 4 sistemas automatizados CELLDYN 3700.....	96



ABREVIATURAS

%B Porcentaje de basófilos.

%E Porcentaje de eosinófilos.

%L porcentaje de linfocitos.

%M Porcentaje de monocito.

%N Porcentaje de neutrófilos.

μL microlitro

BASO Recuento absoluto de basófilos.

CAP College of American Pathologists

CHCM Concentración de hemoglobina corpuscular media.

CMHC Concentración media de hemoglobina corpuscular

dL Decilitro

EMA Entidad Mexicana de Acreditación.

EOS Recuento absolutos de eosinófilos.

fL femtolitros

HCM Hemoglobina corpuscular media

HCT Hematocrito

HGB Hemoglobina

LYM Recuento absoluto de linfocitos.

MCV Volumen corpuscular medio.

MONO Recuento absolutos.

MPV Volumen plaquetario medio.

NEU Recuento absoluto de neutrófilos.

NK Natural killer

PCT Plaquetocrito.

pg picogramos

PLT Recuento de plaquetas.

PMN Polimorfonucleares.

RBC Recuento de eritrocito.

RDW Amplitud de distribución eritrocitaria.

VCM Volumen corpuscular medio.

WBC Recuento de leucocitos.

ISO International Standard Organization.

CRTL A control alto.

CRTL B control bajo.

DS Desviación estándar.



RESUMEN

La evaluación de la competencia técnica de los laboratorios clínicos, debe justificarse en la demostración de la validación y verificación de los procedimientos que se efectúan para realizar los exámenes que estos emiten, puesto que la responsabilidad que tienen los laboratorios clínicos es ofrecer servicios con validez técnica, tomando en cuenta que la información que transmiten a los médicos es fundamental, ya que esta permite la toma de decisiones de tipo diagnóstico, terapéutico o simplemente para el monitoreo de un paciente, por tanto se deben brindar servicios con calidad y confiabilidad.

La Entidad Mexicana de Acreditación (EMA) nos proporciona una guía de referencia en la que encontramos un apoyo para el aseguramiento de las mediciones que se realizan en la práctica rutinaria de los laboratorios clínicos.

La “Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico” la deben cumplir los laboratorios que se encuentren en alguna etapa del proceso de acreditación ante la EMA, esta describe los puntos a considerar para la realización de dicha validación y verificación, para el cumplimiento y evaluación del punto 5.5.2 de la norma NMX-EC-15189-IMNC / ISO 15189:2007, la cual nos indica que el laboratorio debe utilizar únicamente procedimientos validados para confirmar que los procedimientos de examen son apropiados (EMA,2008).

En el Laboratorio de referencia internacional Carpermor, que está acreditado en la norma NMX-EC-15189-IMNC / ISO 15189:2007, la verificación de los métodos analíticos se realiza en base al “Procedimiento Específico para la selección y verificación de métodos analíticos de Carpermor” el cual aplica la guía de la EMA.

En el presente trabajo se describe la realización de la verificación y validación de métodos cuantitativos en los equipos CELLDYN 3700 del departamento de Hematología de Carpermor, mediante el procedimiento PRE-DLA-007 “Selección Validación y Verificación de Métodos analíticos”, El laboratorio cuenta con 4 sistemas automatizados CELLDYN 3700 enumerados como 3410, 3411, 3431, 3432 y un ADVIA 120 para el proceso de Biometría Hemática.



INTRODUCCIÓN

La automatización del laboratorio clínico se refiere a los procesos analíticos que se realizaban manualmente y que ahora son realizados por equipos automatizados, con la menor participación posible del analista, esto ofrece rapidez y precisión por lo que mejora la eficiencia y evita el error humano, mas cuando se trabajan gran cantidad de muestras, pero aunque la automatización nos brinda confianza también hay que asegurar que los resultados que se obtienen sean verídicos, las pruebas que se realizan a los equipos automatizados en una validación y verificación de método nos proporcionan la certeza que los resultados que se obtiene tiene validez técnica.

La prueba que realiza los equipos automatizados CELLDYN 3700, es la Biometría hemática, de la cual hay que decir que es y su importancia, para así conocer por que es primordial que los métodos de los exámenes clínicos estén validados.

La biometría hemática, también denominada hemograma, citometría o citología hemática, valora el estudio de las tres líneas celulares que se encuentran en el torrente sanguíneo, cada una con funciones diferentes entre sí, pero que tienen en común que las produce la médula ósea (Almaguer, 2003).

La sangre está compuesta por una sustancia intercelular líquida llamada plasma, en la cual se encuentran en suspensión los elementos figurados: hematíes o eritrocitos, leucocitos y plaquetas (Fig.1). La sangre circula a través de un sistema de tubos cerrados, denominados vasos sanguíneos; esta actúa manteniendo la composición adecuada y casi constante de los líquidos corporales, los que permiten la nutrición, el crecimiento y la función de las células del organismo (IMRSC, 2013).

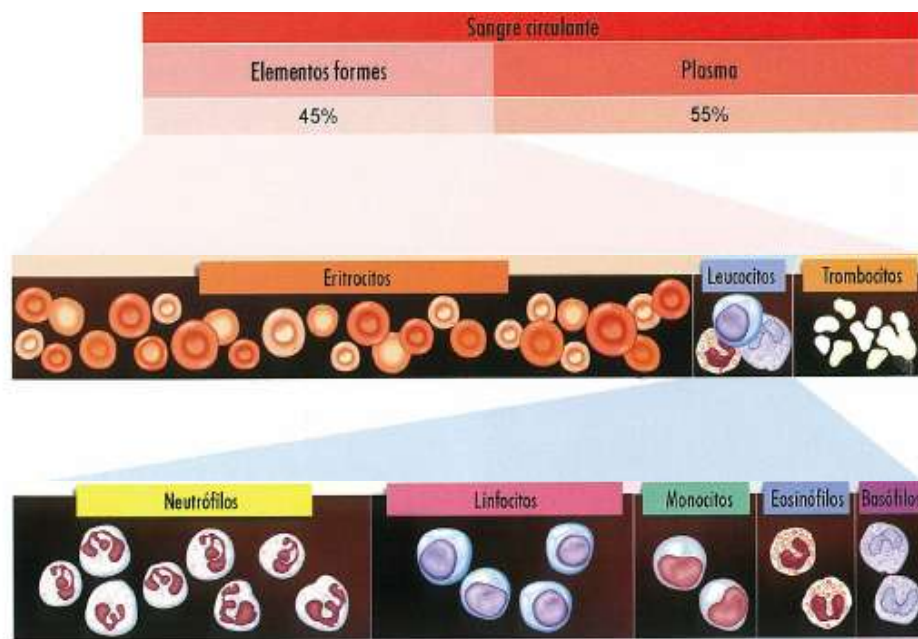


Figura 1. Representación esquemática de los componentes celulares de la sangre (Abbott D, 2002).



I. BIOMETRÍA HEMATICA

La biometría hemática, es uno de los auxiliares de la valoración clínica más usados actualmente, ya que es una prueba de detección básica, que proporciona información diagnóstica valiosa sobre el estado del paciente, por ejemplo, la respuesta al tratamiento y recuperación ante el mismo. Esta prueba consta de una serie de mediciones que determina: número, variedad, porcentaje, concentración y calidad de las células sanguíneas (Almaguer, 2003).

I.1 Fórmula roja.

Los eritrocitos son células altamente especializadas en el transporte de oxígeno hacia los tejidos, gracias a su principal componente, la hemoglobina (Abbott D, 2002). Debido a que carece de núcleo a veces se le niega el nombre de célula y se le llama corpúsculo rojo (García, 2011).

El eritrocito normal maduro tiene el aspecto de un disco bicóncavo (Fig.2), con un diámetro promedio de 8 μm , el cual disminuye discretamente con el envejecimiento celular. Su notable flexibilidad le permite una deformabilidad que hace a la célula capaz de atravesar capilares de hasta 2,8 μm de diámetro (Abbott D, 2002).

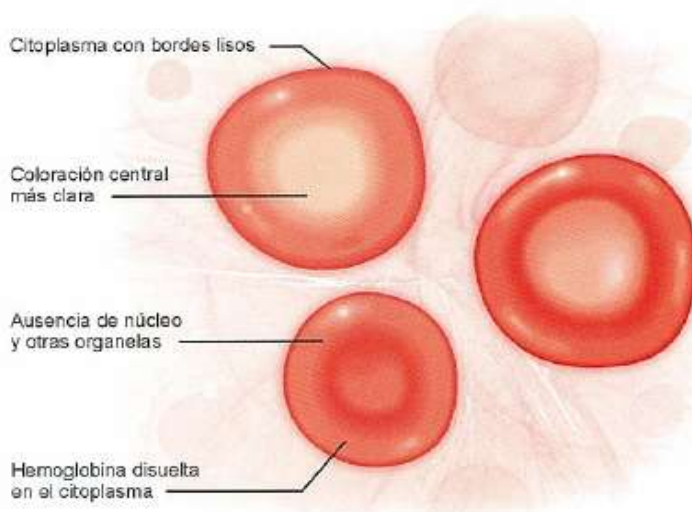


Figura 2. Eritrocito maduro (Abbott D, 2002).

La vida útil del eritrocito es de 100 a 120 días (IMRSC, 2013) a medida que envejece, va perdiendo progresivamente su membrana y aumenta en forma relativa la concentración de hemoglobina, disminuyendo su deformabilidad, todos estos cambios no se observan morfológicamente (Abbott, 2002). Son destruidos en el bazo, hígado y médula ósea, por los macrófagos; la molécula de hemoglobina se desdobra en hematina y globina, de la hematina se

separa el hierro, que es utilizado de nuevo o almacenado y se forma la biliverdina y de ella la bilirrubina que es secretada por el hígado con la bilis (IMRSC, 2013). En la Figura. 3 se muéstrala el proceso de maduración de los hematíes.

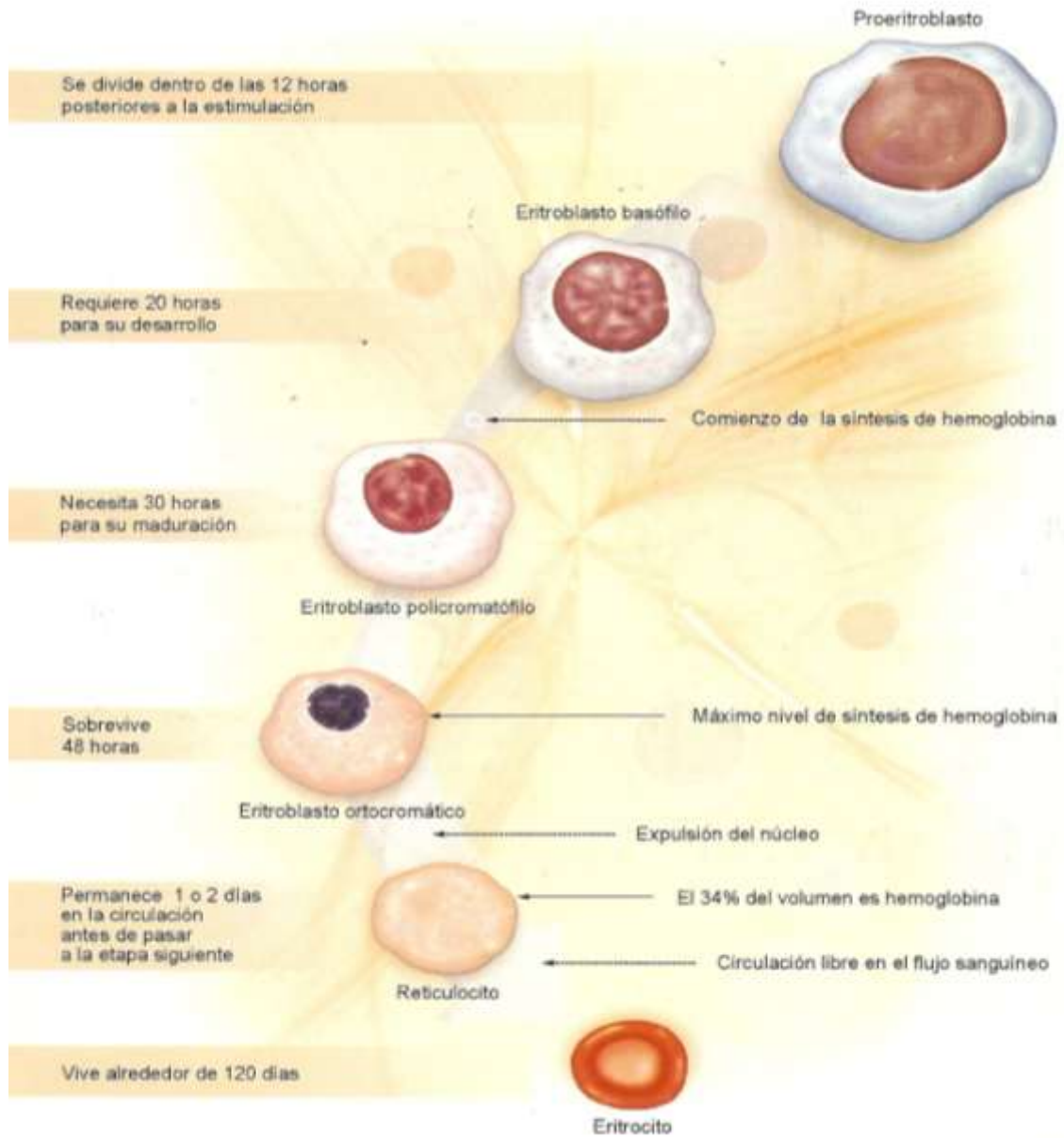


Figura 3. Representación esquemática del proceso de maduración del eritrocito (Abbott D, 2002).



Los datos que se reportan en una biometría hemática sobre los eritrocitos se pueden dividir en dos:

- **Índices eritrocitarios primarios**

- ✓ *Cuenta de eritrocitos*: Es la cantidad de eritrocitos en sangre y se expresa como número de de eritrocitos por microlitro (μL) (García, 2011), el valor de referencia para mujeres es de 3.8 a 5.4×10^6 eritrocitos/ μL y en hombres es de 4.3 a $6.1 \times 10^6/\mu\text{L}$ (Díaz, 2002).

El recuento de hematíes es fundamental para el diagnóstico de las anemias, ya que hay anemias que cursan con disminución de la cifra de eritrocitos, las hemorragias internas también se reflejan en la disminución del número de hematíes. Un exceso de hematíes puede ser indicio de policitemia (García, 2011).

- ✓ *Hematocrito (HCT)*: Es el volumen de eritrocitos con respecto al volumen sanguíneo total; o la relación existente entre los eritrocitos de la sangre y el volumen total de esta; Es un estimado de la masa de los eritrocitos, casi siempre expresado en porcentaje; En este caso el valor numérico es aproximadamente tres veces la concentración de hemoglobina, pero en estados patológicos no siempre es así. Este es un parámetro relativo, un porcentaje, no es una medición de la masa real total de los eritrocitos (García, 2011). Para mujeres los valores son de 37 a 47% y en hombres de 40 a 54% (Díaz P, 2012).
- ✓ *Hemoglobina (HGB)*: Es una proteína conjugada que sirve como vehículo para el transporte de oxígeno (O_2) y dióxido de carbono (CO_2), está formada por la globina en un 95% y por el grupo hemo con un 4.5%, proporciona una medida indirecta de la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre. Se expresa en gramos por cada 100mL (g/dL) (García, 2011). La bibliografía indica que para mujeres se tiene una hemoglobina de 12 a 16g/dL y para los hombres de 14 a 16 g/dL (Díaz P, 2012).



- **Índices eritrocitarios secundarios**

Sirven para clasificar los eritrocitos

- ✓ *Volumen corpuscular medio (VCM)*: Es el volumen promedio de eritrocitos, se expresa en femtolitros (fL), se emplea para clasificar la población eritrocítica general en:
 - Normocítica, tamaño normal.
 - Macroscítica, eritrocitos grandes.
 - Microscítica, eritrocitos pequeños.

El valor de referencia va de 83 a 100fL. (Díaz P, 2012).

- ✓ *Hemoglobina corpuscular media (HCM)*: es el peso promedio de la hemoglobina en cada eritrocito, o la cantidad promedio de hemoglobina que contiene un eritrocito, se expresa en picogramos (pg), hay que mencionar que no toma en cuenta el tamaño del eritrocito (García, 2011). El intervalo que se toma como referencia es de 27 a 33pg. (Díaz P, 2012).

- ✓ *Concentración media de hemoglobina corpuscular (CMHC)*: Es el promedio de la concentración de hemoglobina, se expresa en gramos por cada 100mL de eritrocitos (g/dL), compara la concentración promedio de hemoglobina dentro de cada eritrocito con el volumen promedio, se emplea para clasificar a la población eritrocítica general como:

- Normocrómica, concentración normal de HGB
- Hipocrómica, disminución en la concentración de HGB
- Hiperocrómica, concentración aumentada de HGB

El intervalo de referencia es de 31.6 a 34.8g/dL. (Díaz P, 2012).

- ✓ *Amplitud de distribución eritrocitaria (RDW)*: Es el coeficiente de la distribución del volumen eritrocitario, es decir es el grado de anisocitosis y este se expresa en porcentaje, solo los valores altos son anormales, ya que significa aumentos en la heterogeneidad del tamaño de la población eritrocitaria (García, 2011), siendo este intervalo de 11.8 a 17.7% (Díaz P, 2012).



I.2 Fórmula blanca

Los glóbulos blancos o leucocitos son células nucleadas que se encuentran en cantidad mucho menor que los eritrocitos y son parte del sistema inmune, el cual es un sofisticado mecanismo de regulación que permite responder agresivamente contra lo extraño o contra lo propio envejecido, alterado o transformado al tiempo que se reconoce, se acepta, o no se destruye lo propio normal (Abbott D, 2002). Se pueden clasificar en la serie granulocítica y agranulocítica, a la primera también se les conoce como polimorfonuclear debido a su núcleo multilobulado (IMRSC, 2013).

La serie granulocítica o polimorfonucleares, está compuesta por neutrófilos, eosinófilos y basófilos, los cuales sintetizan proteínas y las almacenan en gránulos citoplasmáticos que le dan el aspecto característico. Estos gránulos, primarios o azurófilos, definen la conversión del mieloblasto, una célula virtualmente agranular que constituye el precursor más precoz visible al microscopio óptico, en promielocito, el cual es rico en gránulos azurófilos, posteriormente a este último le aparecerán gránulos específicos que definirán la progresión hacia mielocitos de tipo neutrófilos, eosinófilos o basófilos (Abbott D, 2002).

Las células siguientes ya no se dividen, son amitóticas, y se caracterizan por presentar un núcleo segmentado y por su capacidad de motilidad, fagocitosis y destrucción microbiana. Los granulocitos maduros también desarrollan estructuras citoplasmáticas y de superficie que les permiten adherirse y atravesar la pared de vénulas. De esta manera, luego de alcanzar la circulación desde la médula ósea, se dirigen rápidamente hacia los tejidos en donde cumplirán funciones de defensa, para lo cual fueron destinados (Abbott D, 2007), en la figura 4. Se muestra el proceso de granulopoyesis.

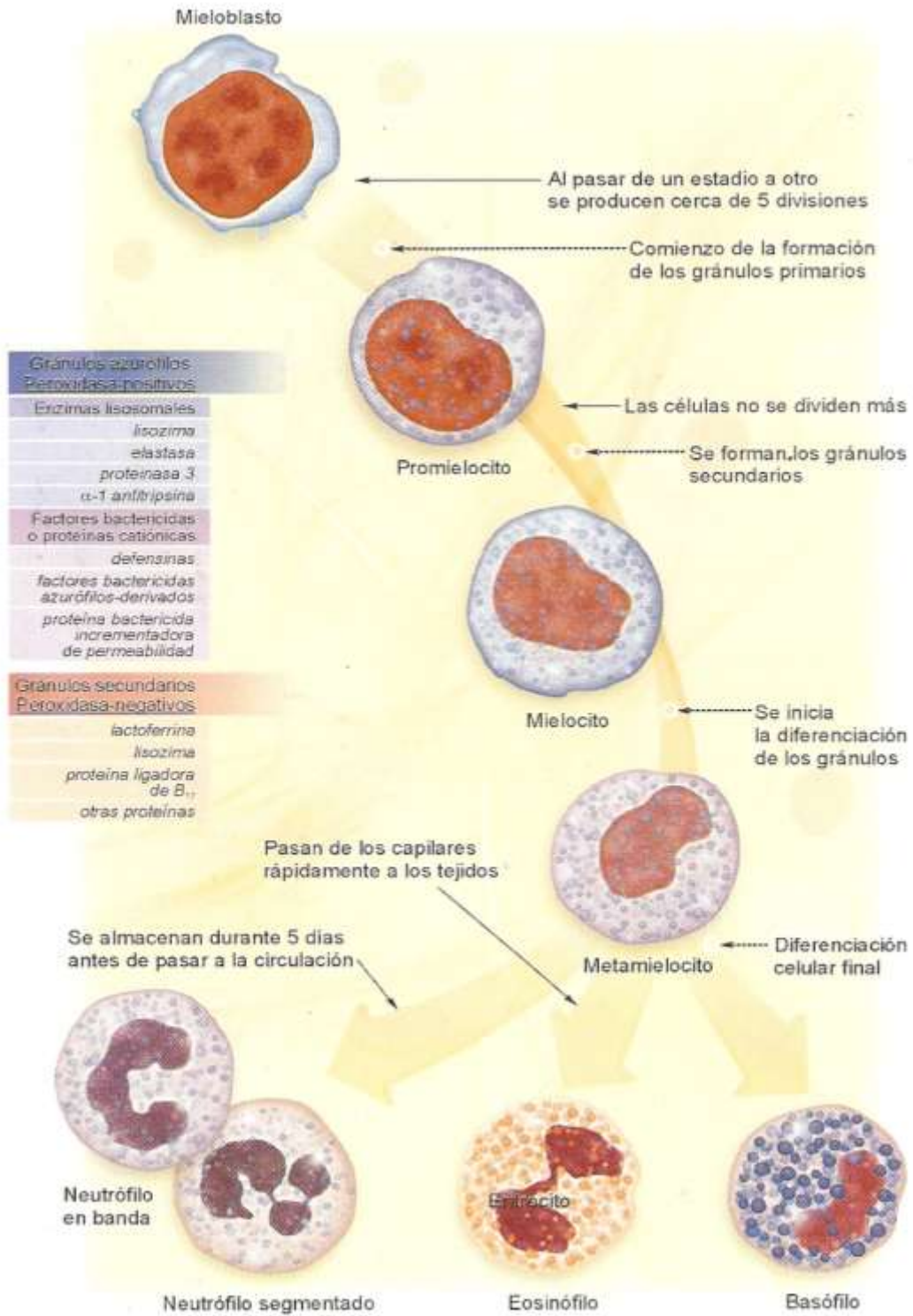


Figura 4. Esquema general de la granulopoyesis (Abbott D, 2002).



La serie agranulocítica comprenden a los linfocitos y a los monocitos, los cuales no se les observa gránulos al observarlos al microscopio óptico, aunque esto no indique su inexistencia.

Los datos reportados en la biometría hemática sobre los leucocitos se dividen en:

- ✓ *Leucocitos totales:* Es el número de leucocitos que se encuentra en un microlitro (μL) de sangre. Se expresa en miles de células/microlitro (μL), se aceptan como valores normales, 3.56 a 10.30×10^3 células/ μL (Díaz P, 2012).

El aumento de leucocitos en sangre periférica (leucocitosis) sirve para el diagnóstico y seguimiento de infecciones, y puede ser el primer signo en las leucemias. La ausencia de leucocitos se da en aplasias sanguíneas.

Leucocitosis, Es el aumento de leucocitos por arriba de los valores de referencia, puede deberse al aumento de uno o de varios tipos de leucocitos (García, 2012).

El aumento de neutrófilos (neutrofilia) es la causa más común de leucocitosis, le siguen en frecuencia el aumento de linfocitos (linfocitosis) y de monocitos (monocitosis); no es frecuente encontrar aumento de eosinófilos o de basófilos (García, 2012).

Leucopenia, es la disminución de leucocitos por debajo de los valores de referencia, puede deberse a la disminución de uno o de varios tipos de leucocitos. Es mucho menos frecuente que la leucocitosis (García, 2012).

- ✓ *Cuenta diferencial de leucocitos:* Es la cantidad de cada uno de las poblaciones de leucocitos en valores absolutos y relativos; los valores absolutos son células/ μL ($n^\circ \times 10^3 / \mu\text{L}$) y los valores relativos son porcentuales, observando así aumentos o disminuciones en las diferentes poblaciones de leucocitos.

Neutrófilos: constituyen la variedad predominante de granulocitos, hablando de leucocitos totales son del 60 al 70% en circulación. El sistema de neutropoyesis tiene una alta velocidad de producción celular y está finamente regulado de modo tal de incrementar la producción en respuesta a estímulos inflamatorios (Abbott D, 2002). La vida media intravascular de los neutrófilos es de 6 a 8 horas y su principal función es su capacidad fagocítica (Díaz D, 2002).

Neutrofilia: la causa más importante es la infección aguda, otras causas son, infecciones crónica, procesos mieloproliferativos, glucocorticoides, liberación de adrenalina, (ejercicio intenso, excitación o estrés) y tabaquismo (García, 2012).

Neutropenia: puede ser hereditaria o adquirida, la más frecuente son las yatrógenas (citotóxicos, inmunosupresores y haptenos inmunitarios) (García, 2012).



Linfocitos: Constituyen un grupo heterogéneo de células que desarrollan un papel fundamental en el sistema inmune y que pueden distinguirse fácilmente de otros leucocitos por su morfología característica (Abbott D, 2002). Existen tres clases de linfocitos: linfocitos T, linfocitos B y células *natural killer* (NK). Los linfocitos se originan en la médula ósea y derivan de la célula madre hematopoyética CD 34 (stem cell). La maduración de los linfocitos B se realiza en el hígado fetal antes del nacimiento y después en la médula ósea; los T maduran en el timo. En estos órganos, los linfocitos son seleccionados mediante un riguroso escrutinio, por lo que de las células generadas inicialmente, emerge sólo una minoría: 50% de B y 10% de T aproximadamente, el resto muere por apoptosis (Vega, 2009).

Los linfocitos maduros se dirigen a los órganos linfoides secundarios, sitios en los que se unen al antígeno correspondiente. El linfocito B puede unirse a ellos de manera directa, el T únicamente lo hace si el fagocito se los presenta. Los linfocitos, al ser activados por esta interacción se transforman en células efectoras y generan, además, clonas de células de memoria específicas para el antígeno. Los linfocitos T, B y NK son indistinguibles morfológicamente, pero tienen funciones distintas y marcadores específicos que los diferencian (Vega, 2009). En la figura 5 se representa la linfopoyesis.

Linfocitosis: Hay dos tipos, la absoluta y la relativa. Cuando solo se elevan los linfocitos y no se observa otras alteraciones de los leucocitos, la linfocitosis es absoluta; si aparece junto con una neutropenia, se le llama linfocitosis relativa (García, 2012).

Linfocitopenia o linfopenia: En los niños, en particular en los recién nacidos, en donde el recuento de linfocitos es relativamente alto, un recuento bajo es altamente sospechoso de una inmunodeficiencia combinada severa (García, 2012).

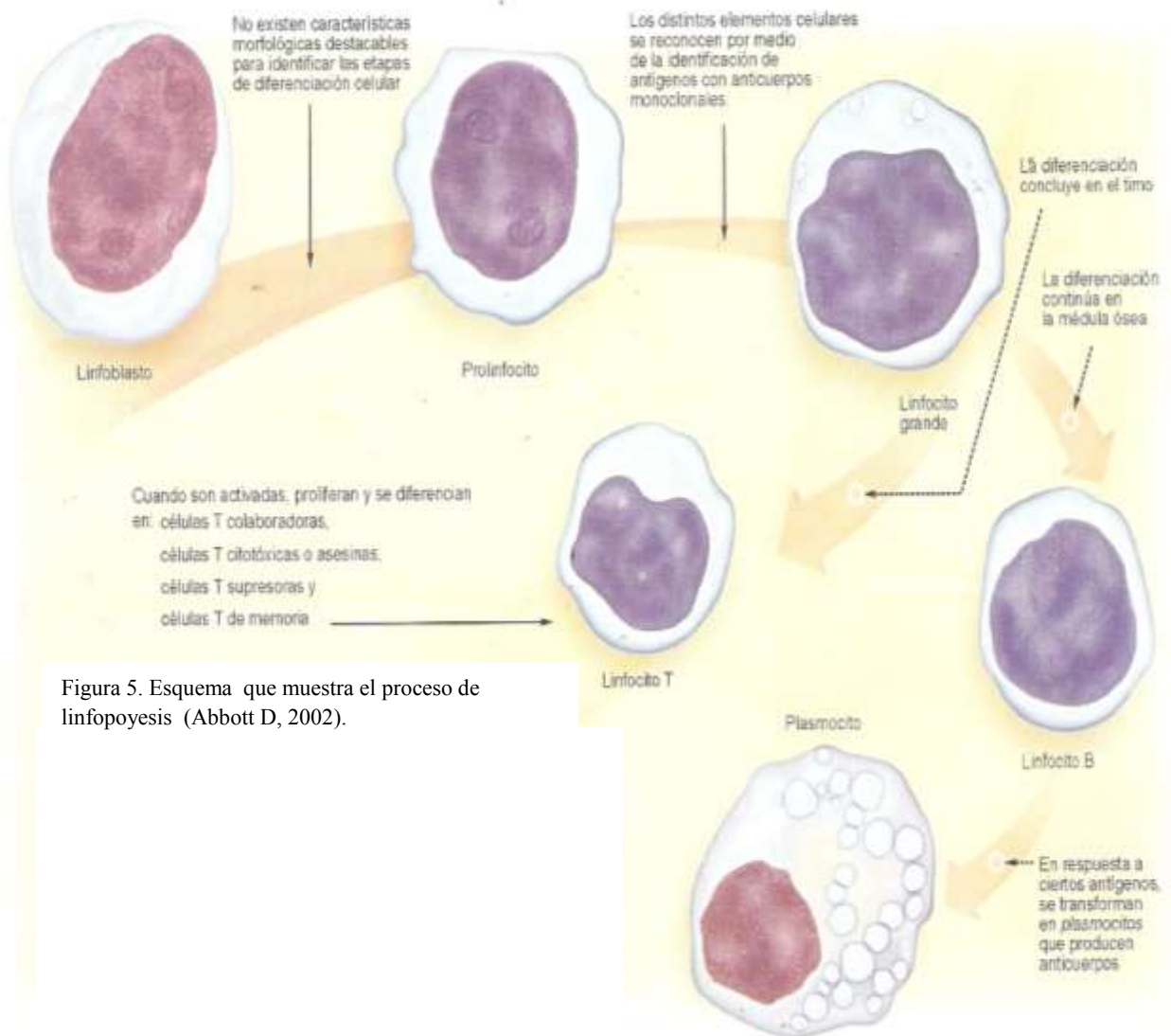


Figura 5. Esquema que muestra el proceso de linfopoyesis (Abbott D, 2002).

Monocitos: Estas células comprenden un grupo de leucocitos especializados en la fagocitosis que también se desarrollan en la médula ósea. En circulación están en un porcentaje del 3 al 8%, de ahí rápidamente se dirigen hacia diversos tejidos y, una vez en ellos, se transforman en macrófagos, cuya función es la fagocitosis y digestión de elementos extraños, incluyendo microorganismos (Abbott D, 2002).



El monocito maduro, mide aproximadamente de 12 a 15µm de diámetro, cuyo núcleo ocupa cerca de la mitad del área celular, generalmente está ubicado en una posición excéntrica y de forma irregular, descrita generalmente como célula “en herradura” (Abbott D, 2002).

Monocitosis: los monocitos están elevados en neonatos y en mujeres gestantes, en donde se elevan paralelos con los neutrófilos, hay pocas patologías que eleven específicamente la cuenta de monocitos; puede deberse a infecciones crónicas y tumores (García, 2012).

Eosinófilos: Este granulocito reside predominantemente a nivel tisular y también cumple función de defensa, En sus gránulos almacenan proteínas con funciones citotóxicas para parásitos, por lo cual se considera que tienen acción de defensa contra este tipo de organismos. Asimismo, están implicados en las respuestas inflamatorias relacionadas con fenómenos alérgicos y son reclutados en sitios de reacciones específicas inmunes. En torrente sanguíneo circula con una vida media de 12 a 18 horas antes de migrar hacia los tejidos, lugar en el que se halla la principal población de estas células, encontrándose en una cifra aproximadamente cien veces mayor que en la sangre (García, 2012), en circulación los encontramos del 0 al 5% (Abbott D, 2002). En la figura 6. Se muestra la morfología del eosinófilo.

Los eosinófilos se encuentran distribuidos en varios órganos, pero en especial en aquellos que interactúan con el ambiente externo, tales como el tracto respiratorio bajo, los sistemas gastrointestinal y genitourinario. Una vez en los tejidos pueden sobrevivir por 6 a 8 días, pudiendo extenderse por semanas bajo efecto de citoquinas liberadas local o sistémicamente (Santini, 2000).

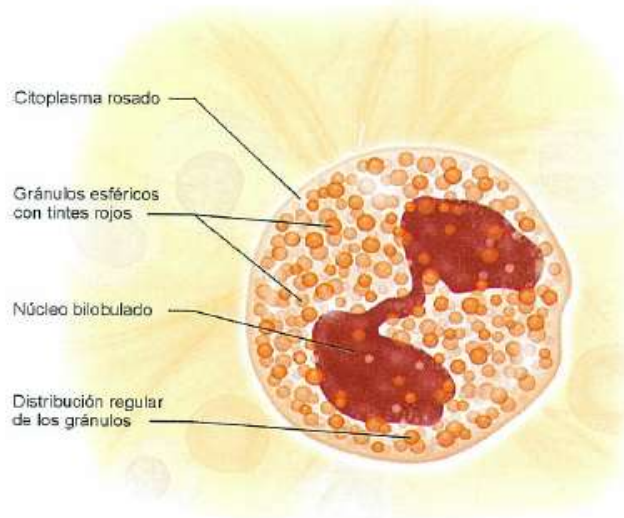


Figura 6. Representación del un eosinófilo (Abbott D, 2002).



Eosinofilia: En países como el nuestro, la causa más frecuente son las enfermedades parasitarias, la otra causa son las enfermedades alérgicas, que son la causa más frecuente en países desarrollados (Santini, 2000).

Basófilos: Constituyen una muy pequeña proporción de los leucocitos circulantes pues constituyen el 0 al 1% y su tamaño es de 10- 12 μ m (IMRSC, 2013). Esta célula tienden a ubicarse en los tejidos en donde existe inflamación relacionada con hipersensibilidad a proteínas, alergia de contacto o rechazo injerto contra huésped (Abbott D, 2002).

El núcleo es de contornos irregulares en forma de haba y en ocasiones bilobular. Lo más sobresaliente en la morfología de estas células es su citoplasma repleto de gránulos redondos de tamaño variable y su afinidad por los colorantes básicos (Fig.7). A diferencia de los gránulos de los otros granulocitos estos no son lisosomas, pues contienen histamina, heparina y serotonina. La función de los basófilos aún no está bien definida, aunque existen datos que sustentan que ellos liberan heparina e histamina en la sangre circulante, por lo cual se considera que tienen cierta relación con las células cebadas del tejido conjuntivo (Abbott D, 2002).

Basofilia: es una causa rara de leucocitosis. Es altamente sugestiva de enfermedades mieloproliferativas, aunque puede deberse a muchas causas (García, 2012).

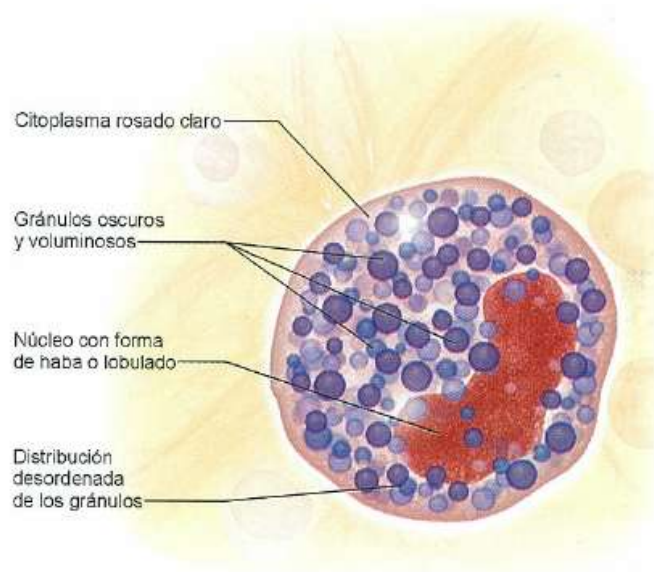


Figura 7. Representación de un Basófilo (Abbott D, 2002).



I.3 Plaquetas

Las plaquetas son fragmentos citoplasmáticos anucleados, que se producen como consecuencia de la ruptura y liberación del citoplasma de los megacariocitos de la médula ósea (Fig.8). Las plaquetas circulan en la sangre en forma de disco biconvexo (discocitos) de aproximadamente 3 μm de diámetro con una vida media en la sangre de 7 a 10 días y su concentración oscila entre 150 000 y 450 000 por μL (Campuzano, 2008).

En su citoplasma contienen glucógeno que les suministra energía, y ribosomas en las plaquetas jóvenes; carecen de síntesis proteica. Las plaquetas poseen organelos inespecíficos, como mitocondrias, lisosomas y peroxisomas, que tienen características y funciones similares a las de otras células, pero además, portan organelos específicos, como son los gránulos α y los gránulos densos, las plaquetas son críticas para una adecuada hemostasia (Campuzano, 2008).

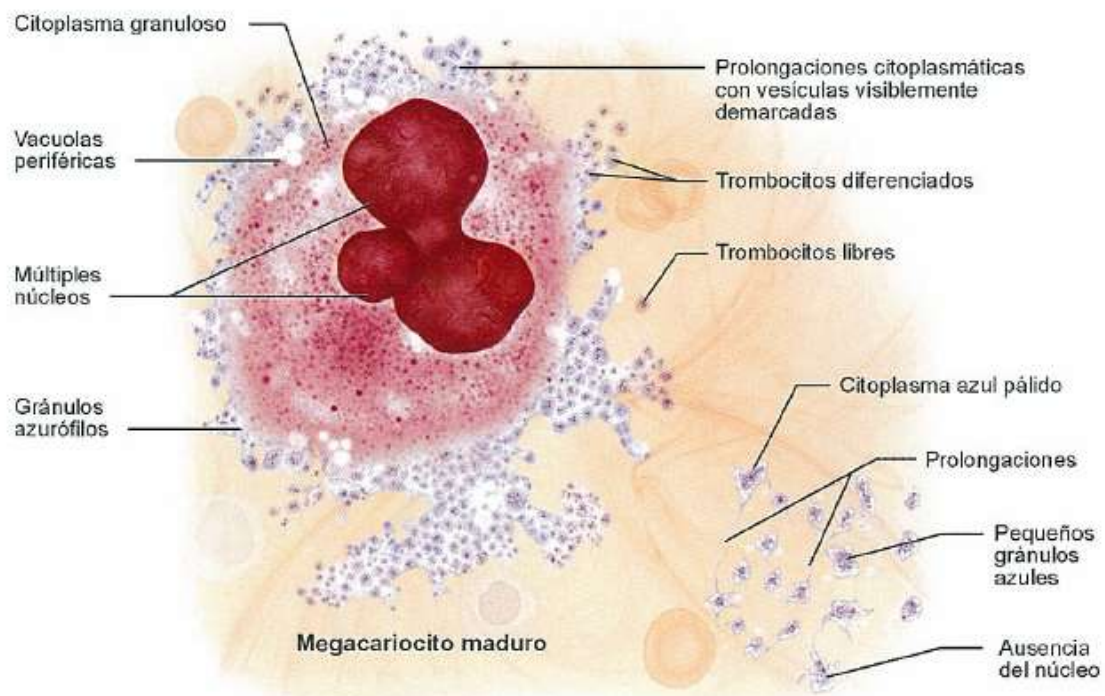


Figura 8. Representación de un megacariocito y la liberación de plaquetas (Abbott D, 2002).



II. Sistema automatizado CELLDYN 3700.

El sistema CELLDYN 3700 es un analizador de hematología automático y multiparamétrico, diseñado para utilizarse en el diagnóstico in vitro en los laboratorios clínicos. El cual tiene dos modos de muestreo, modo abierto y modo cerrado.

Las determinaciones que lleva acabo son las siguientes:

- ✓ Parámetros leucocitarios.
 - WBC Recuento de leucocitos.
 - NEU Recuento absoluto de neutrófilos.
 - LYM Recuento absoluto de linfocitos.
 - MONO Recuento absolutos.
 - EOS Recuento absolutos de eosinófilos.
 - BASO Recuento absoluto de basófilos.
 - %N Porcentaje de neutrófilos.
 - %L porcentaje de linfocitos.
 - %M Porcentaje de monocito.
 - %E Porcentaje de eosinófilos.
 - %B Porcentaje de basófilos.

- ✓ Parámetros eritrocitarios.
 - RBC Recuento de eritrocito.
 - HGB Concentración de hemoglobina.
 - HCT Hematocrito.
 - MCV Volumen corpuscular medio.
 - MCH Hemoglobina corpuscular media.
 - MCHC Concentración media de hemoglobina corpuscular
 - RDW Amplitud de distribución eritrocitaria.

- ✓ Parámetros plaquetarios.
 - Recuento de plaquetas.
 - MPV Volumen plaquetario medio.
 - PCT Plaquetocrito.

Los principios que utiliza el sistema CELLDYN 3700 para medir, contar y calcular los parámetros hematológicos, son cuatro mediciones independientes:

- a. Recuento de leucocito y diferencial por tecnología óptica MAPSS (WOC) por un canal de flujo óptico (Abbott La, 2007).
- b. Recuento de leucocitos por impedancia eléctrica (WIC) en un canal de impedancia eléctrica (Abbott La, 2007).
- c. Los datos de eritrocitos y plaquetas se miden en un segundo canal de impedancia eléctrica (Abbott La, 2007).



- d. La hemoglobina se mide en un canal espectrofotométrico a 540nm (Abbott Lb, 2007).

Durante cada ciclo del analizador, la muestra es aspirada, diluida y mezclada realizándose mediciones de cada parámetro.

La aspiración de la muestra puede realizarse de dos formas, siendo el usuario quien selecciona el modo:

Modo Abierto. Para aspirar muestra de un tubo que ha sido abierto y es mantenido debajo de la cánula de aspiración (Abbott La, 2007).

Modo Cerrado o Cargador Automático. Se utiliza para aspirar sangre de tubos cerrados y en gran volumen (Abbott La, 2007).

Los volúmenes aspirados comprenden:

- Modo abierto 130 $\mu\text{L} \pm 5\%$ (Abbott La, 2007).
- Muestreador automático 355 $\mu\text{L} \pm 5\%$ (Abbott La, 2007).

Los reactivos que utiliza CELLDYN 3700 son 4 reactivos.

- Diluyente: Diluye los eritrocitos, plaquetas y a los leucocitos en el recuento por impedancia (Abbott Lb, 2007).
- Lisante HGB/WIC: Hemoliza los eritrocitos y disminuye el estroma, desprende el citoplasma de los leucocitos, dejando intacta la membrana nuclear, para poder contar los núcleos leucocitarios (Abbott Lb, 2007).
- Detergente: Proporciona una solución ópticamente clara, necesaria para obtener el valor cero de referencia durante el ciclo de medición de la hemoglobina. Facilita la formación del menisco apropiado en los tubos volumétricos WIC y RBC/PLT y lo mantiene durante cada ciclo de procesado; lava la cámara de recuentos WIC, el tubo volumétrico WIC, la cámara de recuento de RBC/PLT, el tubo volumétrico RBC/PLT y la celda de flujo de HGB, con una formación mínima de burbujas (Abbott Lb, 2007).
- Envoltente: Los leucocitos son diluidos en el reactivo envoltente mantienen su integridad celular, prácticamente como en su estado nativo (Abbott La, 2007).



II.1 Descripción y fundamento del ciclo de análisis de las muestras

El ciclo de análisis comienza, llevando la sangre hacia el analizador por una bomba peristáltica. La bomba aspira la muestra a través de la válvula de segmentación donde un sensor óptico verificará la integridad de la muestra aspirada, la válvula de segmentación, gira con la finalidad de dividir la muestra en los siguientes segmentos (Abbott La, 2007).

- 32 μ L para la dilución de WOC
- 20 μ L para la dilución de WIC/HGB
- 0.74 μ L para la dilución de RBC/PLT

II.1.1 Impedancia eléctrica para conteo de eritrocitos y plaquetas.

Para determinar los datos eritrocitarios y plaquetarios se utiliza un canal de impedancia. La dilución de la muestra es de 1:9,760 con el diluyente. Las células son contadas y su tamaño medido con un método de impedancia, a medida que atraviesan la abertura de 60 x 70 μ m del transductor del canal RBC/PLT (Abbott La, 2007).

La metodología de impedancia implica que una célula pasa a través de una apertura por la cual fluye una corriente eléctrica continua y constante, en un medio electrolítico que puede o no ser isotónico, generando una variación en la velocidad de flujo de esta corriente eléctrica que será directamente proporcional al volumen celular e inversamente proporcional al diámetro de la apertura (Abbott D, 2002).

Durante la fase del conteo con esta metodología de impedancia cada partícula o célula que pase a través de la apertura generará un impulso eléctrico. La amplitud de este impulso eléctrico corresponderá de manera proporcional al tamaño de la partícula o volumen celular (Fig. 9) (Abbott D, 2002).

Cada pulso proveniente de eritrocitos y plaquetas es ordenado en base a su amplitud y colocado en un histograma con 256 canales o diferentes tamaños de impulso (Abbott D, 2002).

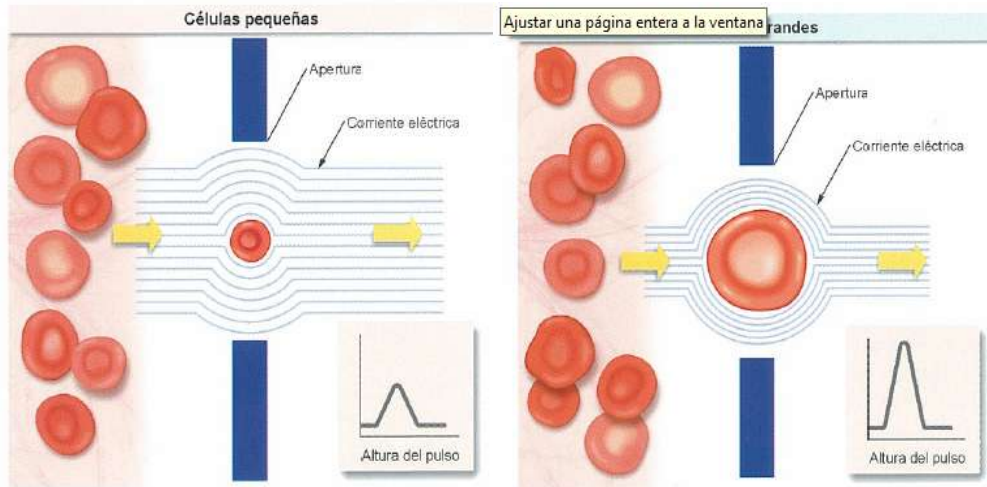


Figura 9. Representación del impulso eléctrico generado cuando pasa un eritrocito (Abbott D, 2002).

Los datos acumulados en cada canal son normalizados con finalidad de facilitar la impresión y visualización en el eje Y. Los datos de amplitud del impulso eléctrico son referenciados al volumen celular en femtolitros y colocados en el eje X. el histograma va a reflejar la distribución volumétrica de los eritrocitos y plaquetas (Abbott D, 2002).

Los impulsos eléctricos son clasificados por su amplitud en plaquetas y eritrocitos, y colocados en sus histogramas correspondientes, cada canal o incremento de tamaño, es de 1 fl para el histograma de eritrocitos y de 0.137 fl en el caso del histograma de plaquetas (Fig.10) (Abbott D, 2002).

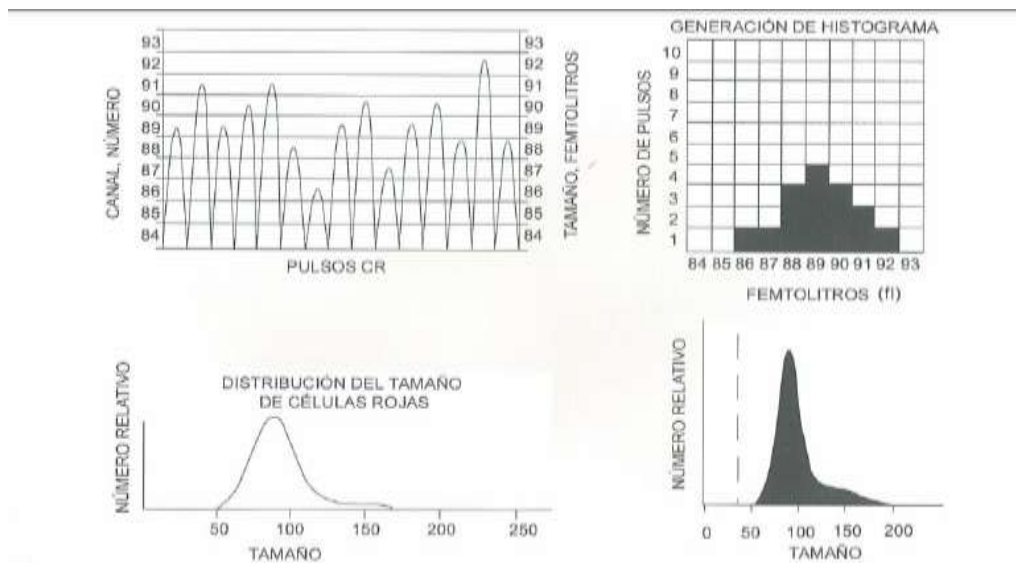


Figura 10. Diagrama de la generación del histograma de RBC (Abbott D, 2002).



El instrumento analiza la información y coloca el punto de corte entre plaquetas y eritrocitos en la mejor posición para separar adecuadamente ambas poblaciones. Generalmente el límite inferior para las plaquetas es colocado entre los canales 1 y 3 fl para separar entre plaquetas y ruido electrónico y entre 15 y 35 fl para discriminar entre plaquetas y eritrocitos (Abbott D, 2002).

Cabe señalar que en el histograma de eritrocitos y plaquetas es el único histograma en donde se puede apreciar la distribución volumétrica real entre todos los tipos celulares presentes en la muestra, como se muestra en la figura 11. El recuento de eritrocitos (recuento RBC) se mide directamente y se expresa en:

$$\text{RBC} = n^{\circ} \times 10^6/\mu\text{l}$$

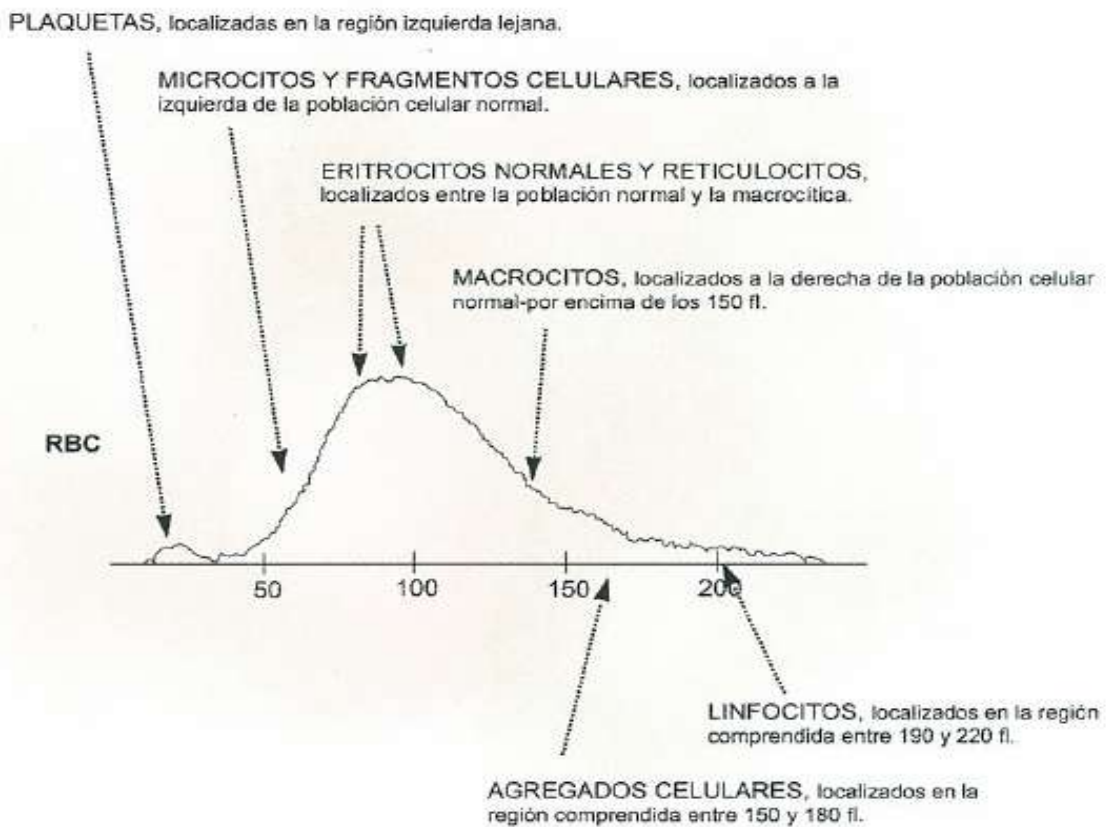


Figura 11. Diagrama del histograma de RBC (Abbott D, 2002).



Entre los parámetros de la fórmula roja que se derivan de este histograma de eritrocitos se encuentran:

- El volumen corpuscular medio (MCV) que se obtiene por medición directa del promedio aritmético del volumen de todos los eritrocitos incluidos en el muestreo (Abbott D, 2002).
- El hematocrito (HCT) se expresa como el porcentaje del volumen de sangre y se calcula a partir del recuento de eritrocitos y de MCV (Abbott La, 2012).

$$\text{HCT} = (\text{RBC} \times \text{MCV})/10$$

- El ancho de distribución eritrocítica (RDW) representa una medida de la heterogeneidad de la población eritrocitaria. El sistema CELLDYN 3700 expresa un valor relativo, equivalente al porcentaje de CV (coeficiente de variación). Este parámetro se obtiene a partir del histograma de los eritrocitos, utilizando la amplitud de distribución de los eritrocitos, medida al 50% de la altura del pico (Abbott D, 2002).

El recuento de plaquetas (PLT) se obtiene a partir del histograma de las plaquetas, una vez que los datos son analizados con el algoritmo de las plaquetas (Abbott La, 2007).

$$\text{PLT} = n^{\circ} \times 10^3/\mu\text{L}$$

- El volumen plaquetario medio (MPV) se deriva del histograma de las plaquetas, después de determinar el recuento de plaquetas. Este parámetro se expresa en femtolitros (Abbott La, 2007).

II.1.2 Análisis de la hemoglobina

La determinación colorimétrica de la hemoglobina se realiza en el canal HGB, la dilución que se realiza es 1:301 de la muestra, se prepara con el diluyente y el reactivo hemolizante WIC/HGB. El sistema CELLDYN 3700 utiliza un reactivo libre de cianuro, que crea una atmósfera más segura y ecológica. Este reactivo convierte la hemoglobina en un complejo hemoglobina-hidroxilamina la cual es una sustancia cromogénica estable. La fuente luminosa es un diodo emisor de luz filtrada con una longitud de onda de 540 nm. Un detector fotométrico mide la luz transmitida (Abbott La, 2007).



El reactivo hemolizante WIC/HGB hemoliza los eritrocitos, una vez terminado el recuento WIC, la muestra es transferida a la celda de flujo de la hemoglobina, en donde se mide la concentración de hemoglobina. El diodo emisor de luz brilla a través de la celda de flujo y del filtro de 540 nm sobre un detector fotométrico. La concentración de hemoglobina es directamente proporcional a la absorbancia de la muestra a 540 nm. Se realizan cinco lecturas separadas de hemoglobina con cada muestra. Se eliminan los valores mínimo y máximo y se promedian las tres lecturas restantes para obtener el valor final de hemoglobina de la muestra.

Una vez realizadas las lecturas de la hemoglobina, se lava la celda de flujo con el detergente, después de vaciar la solución de lavado se añade más detergente a la celda de flujo. Se obtiene entonces una lectura de cero o en blanco con el detergente, que sirve de referencia para comparar con la señal de la muestra. Con cada muestra se obtienen cinco lecturas en blanco diferentes. Se eliminan los valores mínimo y máximo y se promedian los tres restantes para obtener la lectura final de referencia de hemoglobina (Abbott La, 2007).

Las lecturas de referencia y de la muestra se comparan entre sí, para establecer la concentración de hemoglobina de la muestra. El resultado de hemoglobina se expresa en gramos de hemoglobina por decilitro de sangre (g/dL) (Abbott La, 2007).

Entre los parámetros de la fórmula roja que se derivan de la medición de hemoglobina se encuentran:

- La hemoglobina corpuscular media (MCH) se calcula a partir de RBC y de HGB mediante la ecuación:

$$\text{MCH} = (\text{HGB}/\text{RBC}) \times 10$$

- La concentración de hemoglobina corpuscular media (MCH), se calcula a partir de HGB y HCT:

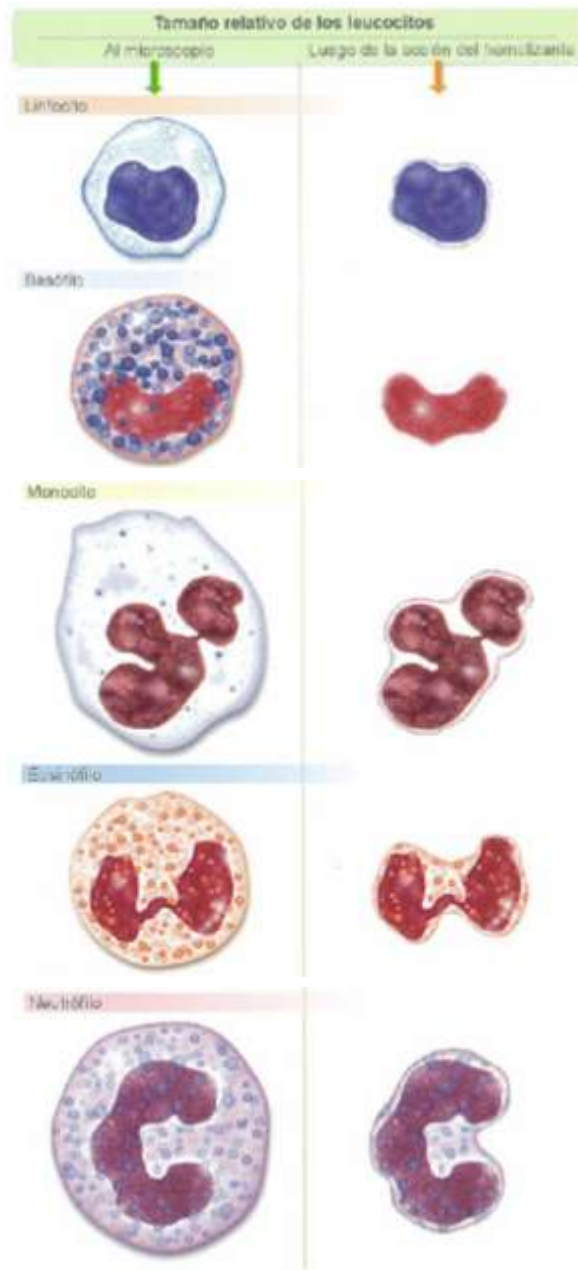
$$\text{MCHC} = (\text{HGB}/\text{HCT}) \times 100$$



II.1.3 Impedancia eléctrica aplicada al conteo y clasificación de células blancas.

La medición del volumen de las células blancas mediante impedancia es posible gracias a la acción del reactivo lisante o hemolisante, el cual no realiza una lisis indiscriminada de las membranas celulares puesto que sólo va a ocasionar la lisis de las membranas eritrocitarias selectivamente con la ventaja adicional de liberar la hemoglobina para su posterior medición colorimétrica. En lo referente a las células blancas, el lisante va a

ocasionar la salida de agua del citoplasma ocasionando que la membrana se adhiera al núcleo de la célula. Esta salida del agua citoplasmática ocasiona que la distribución del tamaño celular no sea igual a la percepción microscópica del tamaño celular, que comúnmente tenemos (Fig.12) (Abbott La, 2007).



Una vez que se modificaron las células por acción del lisante, éstas pasan a través del orificio de apertura de $70\mu\text{m}$ generando impulsos eléctricos, de igual manera como ocurre durante el conteo de eritrocitos y plaquetas, sólo que en este caso la variabilidad entre el tamaño de los impulsos eléctricos entre sí es muy alta y en general hay 3 tipos de células en las que los tamaños de impulso generados se superponen. Estas son: monocitos, eosinófilos y basófilos. De ahí que actualmente la tecnología de impedancia (sin combinarla con alguna otra tecnología) esté limitada a reportar como máximo una diferencial de 3 partes (Abbott D, 2002).

Figura 12. Representación de las células antes y después del reactivo lisante (Abbott D, 2002).



Tal como se puede apreciar en la Figura. 13, en un histograma de 256 diferentes canales los impulsos eléctricos generados por leucocitos mediante impedancia se obtienen 3 poblaciones: linfocitos, región media (monocitos, eosinófilos y basófilos) y granulocitos (neutrófilos) (Abbott D, 2002).

Las plaquetas no van a generar interferencia en muestras normales debido a que por su pequeño tamaño y por la acción del lisante sobre ellas, el impulso eléctrico que generan se encuentra a la izquierda de 35 fl, que es el punto en que comienza el histograma de la serie blanca (Abbott D, 2002).

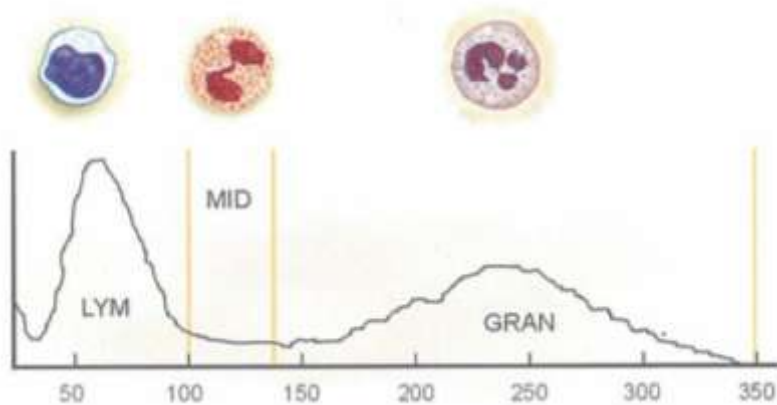


Figura 13. Representación del histograma de leucocitos por impedancia (Abbott D, 2002).

Los analizadores CELLDYN de la serie 3700 emplean tanto la citometría de flujo (tecnología MPSS "Multi-Angle-Polarized-Scatter-Separation") como la impedancia eléctrica para generar los resultados de las células blancas, sin embargo, sólo los datos provenientes del conteo óptico (WOC) se utilizan para la generación del conteo diferencial. MAPSS significa separación mediante dispersión de la luz polarizada en múltiples ángulos (Abbott La, 2007).

El patrón de desviación de la luz láser es utilizado para clasificar las células blancas basándose en su tamaño, complejidad, lobularidad y granularidad, información con la cual se genera la diferencial de cinco partes. Tanto el conteo óptico de leucocitos (WOC) como el conteo por impedancia (WIC) ocurren simultáneamente (Abbott La, 2007).



La citometría de flujo se puede definir como un proceso, en el cual se obliga a las células u otras partículas biológicas a pasar, de una en una, por una corriente de líquidos a través de un sensor o sensores que miden sus características físicas o químicas, las mediciones representan las transformaciones de los cambios en la señal emitida, como consecuencia de las variaciones en la luz dispersada, absorbida o emitida (fluorescencia) por la célula, o los cambios en la impedancia eléctrica, a medida que la células pasa por la estación de medida (Abbott La, 2007).

La citometría de flujo permite examinar rápidamente un gran número de células y tiene una capacidad superior a los métodos tradicionales. Además, proporciona un análisis cuantitativo de las células, que son medidas de una en una (Abbott La, 2007).

Los componentes básicos de un citómetro de flujo comprenden:

- a. Colector y transportador de las muestras
- b. Sistema de flujo
- c. Zona de detección
- d. Detectores de la señal
- e. Recogida de los datos y capacidades de almacenamiento
- f. Visualización de los datos y capacidades de análisis
- g. Dispersión de la luz en el ángulo de avance (medida a 0°).
- h. Dispersión de la luz en ángulo estrecho (medida a 10°).
- i. Dispersión ortogonal de la luz o de noventa grados (medida a 90°).
- j. Dispersión ortogonal de la luz despolarizada o de noventa grados (medida a 90° D, con un filtro despolarizante).

Las células dispersan la luz láser con ángulos diferentes, que suministran información sobre el tamaño de la célula, la estructura interna, la granularidad y la morfología de superficie. Las señales ópticas, generadas por las células, son detectadas y convertidas en impulsos eléctricos que a su vez, se almacenan y analizan dentro del ordenador (Abbott La, 2007).

El sistema CELL-DYN 3700 utiliza un laser de helio-neón a $\lambda 632.8 \text{ nm}$ y $80\mu\text{m}$ de diámetro y mide cuatro ángulos de dispersión (Fig. 14).

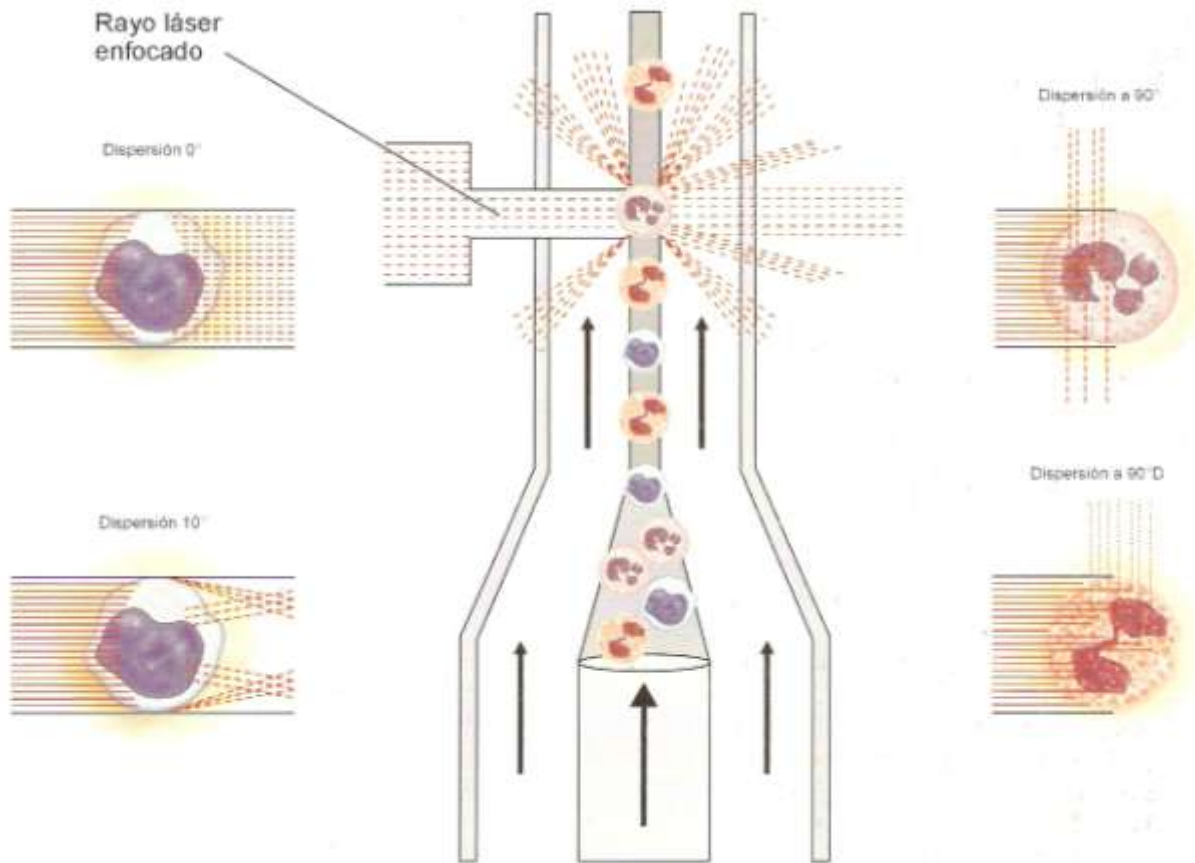


Figura 14. Representación de la dispersión del laser para la clasificación de leucocitos (Abbott D, 2002).

La luz que pasa directamente se conoce como el canal 0° , aunque en realidad se tiene una dispersión entre 1 y 3° , esta luz que pasa es proporcional al tamaño de la célula. La polarización a un ángulo estrecho se conoce como canal 10° , que abarca la luz dispersada entre 7 y 11° , siendo un indicador de la complejidad de la estructura intracelular. La luz polarizada ortogonalmente, también llamada polarización a 90° , abarca la luz dispersada entre 70 y 110° y es indicadora de lobularidad. La luz despolarizada a 90° se usa esencialmente para detectar la granularidad, la cual es específica de eosinófilos, debido a que sus grandes gránulos son los únicos que son capaces de despolarizar la luz. Por lo tanto se obtiene una clasificación individual de cada célula al pasar a través del haz de láser, además sabiendo que el flujo es perfectamente controlado y el número de células detectado por unidad de tiempo es medido se determina así el conteo de WBC por WOC (Abbott Lc, 2006)



Una cantidad fija de muestra de sangre es diluida con envoltente, que es el encargado de llevar las células blancas hacia el sistema de fluidos del instrumento, el cual ha sido cuidadosamente diseñado para mantener casi inalteradas las células blancas. Los gránulos basofílicos son disueltos por el reactivo, alterando dramáticamente el número de eritrocitos, tornándolos casi invisibles para la celda de flujo. El envoltente es una solución hipotónica para las células rojas, es decir, tiene una concentración en sales y otros químicos un poco menor al fluido celular, por otra parte el agua del envoltente penetra en cada célula roja y la hemoglobina es liberada, permaneciendo inalterada la membrana celular de los eritrocitos, siendo invisibles a la luz del láser (Abbott Lc, 2006)

II.1.5 Análisis de datos con la tecnología MAPSS

La cantidad de luz polarizada en cada uno de los cuatro detectores se mide para 10000 células por muestra. Los datos obtenidos son automáticamente analizados por el software del instrumento y así diferenciar entre neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos. El algoritmo de análisis es en cuatro pasos, primeramente los datos de los canales de complejidad (10°) y de granularidad (90°), los cuales son empleados para clasificar cada célula como mononuclear que incluye basófilos sin gránulos o polimorfonucleares, la cual también incluye eosinófilos (Fig 15). El segundo paso, los eosinófilos son separados de los neutrófilos usando los datos del canal de 90° despolarizado (Fig 16). En el tercer paso, las células mononucleares son separadas de los linfocitos, monocitos y basófilos usando los canales de tamaño (0°) y de complejidad (10°)(Fig.17). Finalmente, todas las clasificaciones son combinadas en una gráfica de puntos desplegada en un monitor, llamada “escatógrama” o diagrama de dispersión, que marca cada población con un color (Fig. 18) (Abbott Lc, 2006).

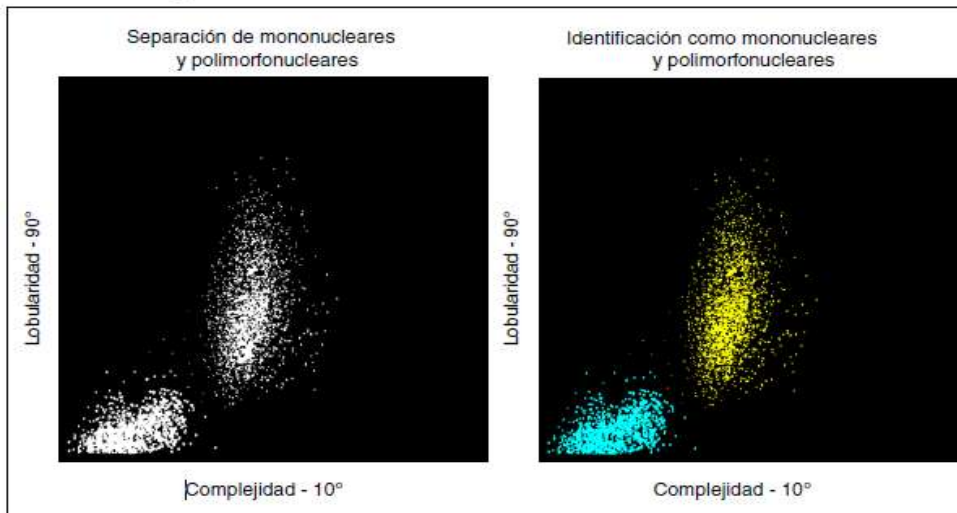


Figura 15. Gráfico de dispersión para la separación de las células mononucleares polimorfonucleares. En este caso se coloca la dispersión a 90° en el eje Y y la dispersión a 10° en el eje X. Esta figura muestra dos poblaciones celulares. Las células mononucleares se sitúan en la nube, que se aprecia en el ángulo inferior izquierdo y las células polimorfonucleares, en la nube que aparece por encima y a la derecha de las mononucleares. El analizador utiliza un umbral dinámico para la separación entre las dos poblaciones, en MONO (mononuclear) o POLY (polimorfonuclear). Una vez identificada las células, esta clasificación se mantiene con independencia para los demás gráficos de dispersión (Abbott Lc, 2006).

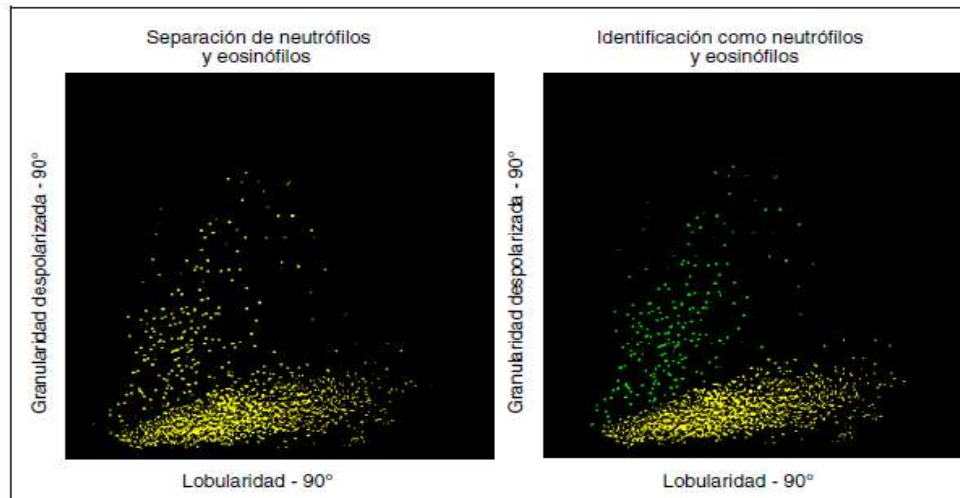


Figura 16. Gráfico de dispersión para la separación de polimorfonucleares y eosinófilos. La dispersión a 90° D en el eje Y y la dispersión a 90° en el eje X. En este gráfico de dispersión sólo se representan las células polimorfonucleares. Las células mononucleares ya han sido identificadas y, por tanto, no interfieren en la clasificación en esta clasificación. Esta figura muestra claramente dos poblaciones diferentes de células polimorfonucleares. Los neutrófilos se agrupan en la nube más baja, de las dos que se visualizan y los eosinófilos se agrupan en la nube superior. El analizador utiliza un umbral dinámico para determinar la separación óptima entre las dos poblaciones y clasifica después, a cada célula como NEUT (neutrófilo) o EOS (eosinófilo) (Abbott Lc, 2006).

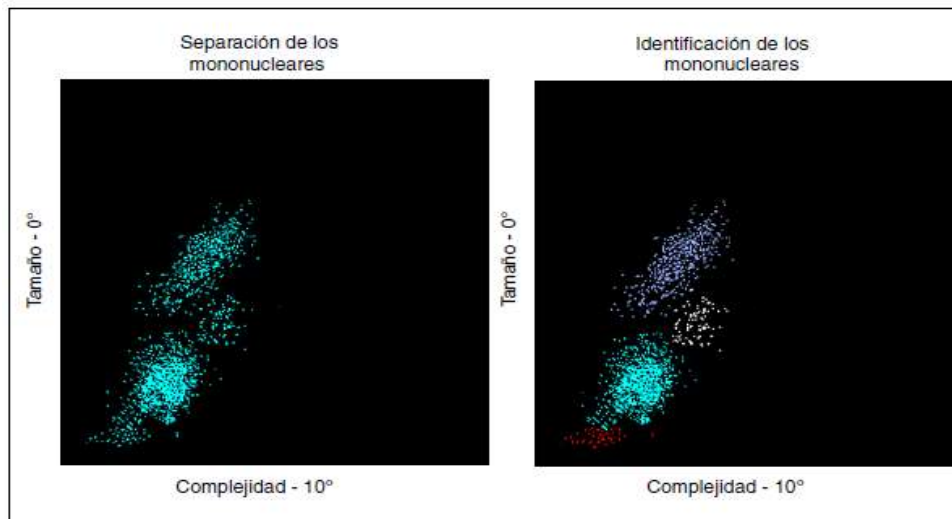


Figura 17. Gráfico de dispersión para la separación de mononucleares. La dispersión a 0° se coloca en el eje Y y la dispersión a 10° en el eje X. En la figura aparecen tres poblaciones diferentes de células mononucleares, porque los basófilos son incluidos en la nube mononuclear. Típicamente, los basófilos son células granuladas y, por tanto, más complejas que las células mononucleares. Sin embargo, los gránulos basofílicos son hidrosolubles y se disuelven en el reactivo envolvente. Por esta razón, los basófilos se transforman en células menos complejas, y se ubican en la nube mononuclear. Los linfocitos se encuentran en la gran nube situada en la porción más baja. (La pequeña población de células, situada debajo de los linfocitos, contiene partículas que probablemente no son leucocitos.) Los basófilos aparecen en la nube situada por encima y ligeramente a la derecha de los linfocitos y los monocitos, en la nube que se eleva sobre los linfocitos y basófilos. El analizador utiliza umbrales dinámicos para establecer la separación óptima entre las tres poblaciones principales y clasifica a cada célula como LINF (linfocito), MONO (monocito) o BASO (basófilo). Por último, el analizador examina el área bajo la nube linfocitaria, toda partícula comprendida en esta zona es separada de los linfocitos mediante un umbral. En esta región pueden los siguientes tipos de células: eritrocitos nucleados, eritrocitos no hemolizados, plaquetas gigantes, agregados de plaquetas (Abbott Lc, 2006).

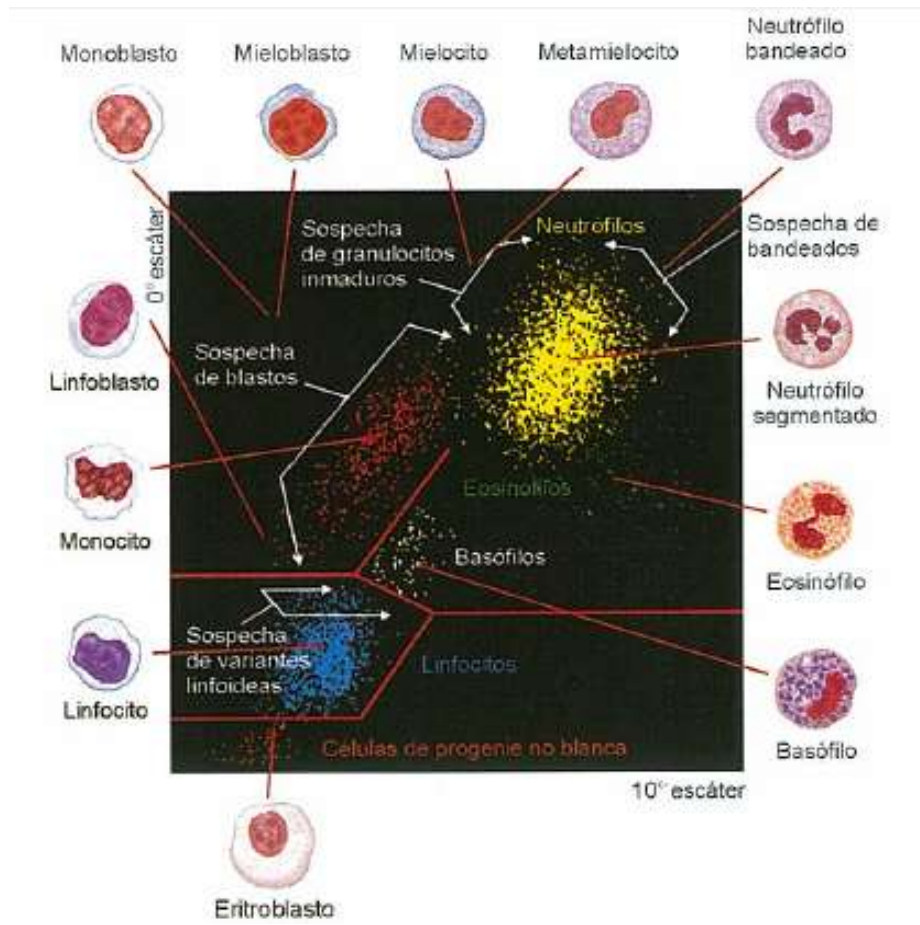


Figura 18. Diagrama del escatograma principal del CELLDYN 3700, el cual utiliza la combinación de las tres clasificaciones anteriores. En él se puede observar la ubicación de cada población celular en el diagrama (Abbott Lc, 2006).



III. ACREDITACIÓN.

El laboratorio clínico es una parte fundamental en la diagnóstico médico, por lo tanto es indispensable que los resultados sean de calidad y confianza; la competencia técnica de los laboratorios nos proporcionan la seguridad de utilizar servicios competentes.

Para el laboratorio clínico el proceso de acreditación favorecen la implementación y mantenimiento de los sistemas de mejora continua del mismo.

Finalmente, el principal beneficiario de los laboratorios acreditados es el paciente, pues es quien recibe de esta manera resultados con alto nivel de calidad.

La acreditación es el procedimiento mediante el cual, un organismo autorizado evalúa y declara formalmente que un laboratorio es técnicamente competente para la realización de un ensayo o grupo de ensayos determinados.

La tarea de evaluar dicha competencia técnica y la eventual declaración pública de la misma es llevada a cabo en México por la Entidad Mexicana de Acreditación (EMA), mediante la comprobación del cumplimiento de los requisitos concretos sobre estructura y organización, imparcialidad, personal, equipos, procedimientos técnicos, sistema de la calidad, establecidos en normas internacionales(Fig. 19).

La acreditación genera, así, confianza en los informes y resultados de análisis emitidos por los laboratorios que voluntariamente se han sometido a la evaluación frente a estándares altamente profesionales.

IV. IMPORTANCIA DE LA VALIDACIÓN

En el ámbito del laboratorio clínico, la Organización Internacional de Normas (International Standard Organization, ISO) publica en el 2003 la Norma ISO 15189: Medical laboratories. Particular requirements for quality and competence / Laboratorios clínicos - Requisitos particulares para la calidad y la competencia. Esta Norma considera que el laboratorio clínico no sólo realiza ensayos, sino provee información médica basada en la interpretación analítica de resultados. Así mismo, menciona que se debe tener calidad en las mediciones, además calidad en el servicio global del laboratorio clínico que se brinda al paciente y al médico. Igualmente, considera las necesidades específicas del entorno médico, como tiempos de respuesta rápidos y servicios de urgencias, así mismo, se concentra en las necesidades del paciente y la contribución del laboratorio clínico a la atención del mismo, sin subestimar la exactitud de las mediciones. La Norma ISO 15189 enfatiza la importancia de las fases pre-examen, examen y post-examen. También incluye aspectos sobre ética y sobre el manejo de los sistemas de información en el laboratorio clínico (PRE-DLA-007).



Figura 19. Proceso de acreditación NMX EC 15189 IMNC 2006.

La realización de validación y verificación de los procedimientos de examen utilizados por el laboratorio, contemplan la satisfacción de las necesidades metrológicas requeridas por el médico para un adecuado tratamiento del paciente. Un laboratorio clínico acreditado o en proceso de acreditación debe demostrar que tiene competencia técnica para realizar las actividades de validación y verificación de los procedimientos de examen cuantitativo establecidos (EMA, 2008)

El laboratorio debe realizar la verificación de los procedimientos de examen seleccionados antes de ponerlos en uso y evidenciar si éstos cumplen con las características de desempeño en las condiciones del laboratorio. La verificación también se debe realizar cada vez que se realice un cambio mayor en algún procedimiento de examen aun cuando ya hubiera sido verificado anteriormente. Ejemplo de cambios mayores son: el cambio de equipo y mantenimiento mayor de equipo. Cambios menores son por ejemplo, la modificación del tamaño de muestra, cambio de analista y sustitución de reactivos (EMA, 2008).



Los criterios para la verificación de procedimiento son los siguientes, de acuerdo a la “Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico” que nos proporciona la EMA:

- Linealidad (intervalo analítico)
- Precisión
- Veracidad
- Incertidumbre

V. CRITERIOS PARA LA VALIDACIÓN Y LA VERIFICACIÓN DE LOS MÉTODOS CUANTITATIVOS EN CELLDYN 3700.

Los criterios para la evaluación y la verificación de los métodos cuantitativos en CELLDYN 3700, son de acuerdo al procedimiento PRE-DLA-007 “Procedimiento específico para la selección, validación y verificación de métodos analíticos.” El cual se basa en la “guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico” los criterios son los siguientes:

V.1 Linealidad (intervalo analítico)

Es la capacidad (dentro de un intervalo dado) para proporcionar resultados que son directamente proporcionales a la concentración del analito en las muestras de examen. Esto se refiere que la concentración del analito y la medición del sistema tendrán como respuesta una función lineal. La representación gráfica de este tramo (concentraciones frente a respuestas) debe exhibir una buena correlación de los puntos experimentales a la recta de regresión para que el método analítico en cuestión sea aceptable (EMA, 2008).

Es importante evaluar dentro del intervalo analítico, los resultados máximo y mínimo que pueden ser reportados. Los fabricantes emiten valores para la linealidad (el intervalo reportable), por lo que es necesario confirmar mediante el suministro de evidencia objetiva que los valores reportados por el laboratorio, muestran un comportamiento lineal con dicho procedimiento de medición (EMA, 2008).

El experimento de linealidad involucra una serie de muestras de concentración conocida o una serie de diluciones conocidas de muestras altamente concentradas. Debe considerarse que dicha verificación debe tocar los puntos de decisión clínica, entendiéndose éstos como las concentraciones o actividades de los analitos donde el médico decide entre administrar o no algún tratamiento terapéutico (EMA, 2008).

Para realizar la evaluación de la linealidad, se deben preparar disoluciones patrón en 5 niveles de concentración mínimo, según la guía de la EMA, en el caso que desee hacerse con más de 5 niveles, no existe restricción alguna.



V.2 Precisión

Para conocer el valor de una magnitud se emplea un procedimiento de medición, y los resultados que se obtienen son una estimación del valor del mensurando. Tal estimación contiene un error de medida, que es la diferencia entre el valor obtenido y el valor verdadero del mensurando (EMA, 2008).

En el error de medición está involucrado el efecto de dos componentes:

- El error aleatorio, se relaciona con la precisión del procedimiento de medición. Estos errores difieren en cualquier sentido del valor medio y afectan la reproducibilidad; ya que la precisión es el grado de concordancia entre los valores de una serie repetida de ensayos, utilizando una muestra homogénea, bajo condiciones establecidas (EMA, 2008).
- El error sistemático, que se relaciona con la veracidad del procedimiento de medición. Pueden existir varias fuentes de error sistemático, siendo algunos errores positivos y otros negativos, la suma de todos ellos se conoce como error sistemático total o sesgo de la medición (EMA, 2008).

Los errores aleatorios y sistemáticos pueden ocurrir independientemente unos de otros y surgir en diferentes etapas del procedimiento. El error aleatorio es más fácil de detectar que el sistemático, ya que el segundo no se puede apreciar con la sola repetición de mediciones y, a menos que se conozca de antemano el valor verdadero del mensurando, podrían existir errores sistemáticos muy grandes, que pasen inadvertidos si no se aplican sistemas de control de calidad interno o se participa en programas de ensayos de aptitud (tales como los programas de evaluación externa de la calidad).

La precisión usualmente se especifica en términos de desviación estándar. Para evaluar la precisión el laboratorio debe aplicar alguna de las siguientes opciones:

- a) Realizar el examen de un material (muestras de pacientes, muestras control) de valor conocido o no, analizado por lo menos 20 veces en forma continua, llamado intraserial o intracorrída o 20 veces en el transcurso del día (24 h) llamado intradía (EMA, 2008).
- b) Utilizar 20 valores obtenidos uno cada día de la misma muestra de un paciente o bien obtenidos de una curva de un programa de control de calidad interno de 20 días diferentes y del mismo lote (interserial o intercorrída).

En ambos casos se debe calcular la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación expresado en porcentaje. La precisión del método obtenida por el laboratorio debe ser menor o igual a la precisión del método que proporciona el fabricante.



En caso de que sea mayor, el laboratorio deberá presentar la justificación estadística documentada de que no existe una diferencia significativa (EMA, 2008).

V.3 Veracidad

Se define como el grado de concordancia existente entre la media aritmética de un gran número de resultados y el valor verdadero o aceptado como referencia. Se relaciona con la presencia de errores de tipo sistemático, también llamado “sesgo” o “desviación”; que puede expresarse como un valor absoluto o relativo al valor verdadero (EMA, 2008).

Al hablar del término exactitud de medición, se refiere al grado de la concordancia entre el resultado de una medición y un valor verdadero (o real) de lo medido (el mensurando), siendo así la exactitud el conjunto de la veracidad y la precisión (Fig. 20) (EMA, 2008).

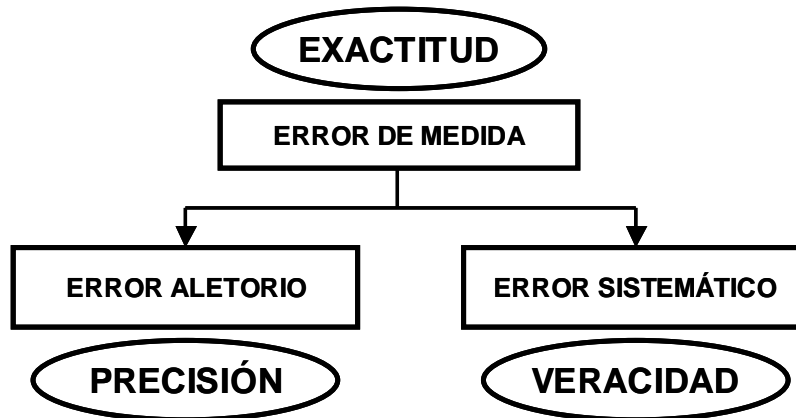


Figura.20 Relación entre los distintos tipos de error y los correspondientes conceptos.

Para verificar la veracidad de los métodos de examen cuantitativos que se emplean en el laboratorio clínico, se pueden utilizar las siguientes valoraciones:

- Valoración de un material de referencia certificado
- a) Valoración por el cálculo del error relativo: La veracidad de un método analítico se puede estimar por medio del error relativo, para lo cual se utiliza un material de referencia certificado (MRC), un material de referencia (MR), un calibrador o un suero con un valor conocido del analito, considerado el valor asignado a éste como el valor verdadero (EMA, 2008).



El cálculo del porcentaje de error relativo, se puede estimar mediante el cálculo inicial de la media aritmética desviación estándar y el coeficiente de variación de una muestra de suero usada, aplicando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de error relativo} = \left[\frac{(\text{Valor real} - \text{Valor de la medición})}{\text{Valor real}} \right] * 100$$

Entre menor sea el porcentaje de error relativo mayor será la veracidad del método. El criterio de aceptabilidad es que el valor del error relativo sea menor o igual al reportado por el fabricante del equipo (EMA, 2008).

- b) Valoración por el cálculo de porcentaje de recuperación: Es la obtención de los valores esperados de los materiales de referencia ensayados. Se puede utilizar material de referencia certificado, un material de referencia (MR) o un calibrador de valor conocido. El material se somete a examen 10 veces y se estima la concentración media del analito y con el valor obtenido se puede determinar el porcentaje de recuperación (EMA, 2008).

$$\% \text{ recuperación} = \left[\frac{\text{Valor obtenido}}{\text{Valor de referencia}} \right] \times 100$$

El porcentaje de recuperación tiene que ser igual o lo más cercano a 100. Valores menores indican menor cantidad recuperada del analito cuantificado y a mayor porcentaje mayor cantidad del analito recuperado. El criterio de aceptación es que el valor sea menor o igual al reportado por el fabricante del instrumento (EMA, 2008).

- Evaluación de la veracidad utilizando estudios de comparación de métodos

Es para estimar el error sistemático. Donde se analizan muestras de pacientes por 2 métodos, el de prueba y el de comparación, es utilizado para estimar el error sistemático basado en las diferencias observadas entre los dos métodos (EMA, 2008).

Dichas diferencias deben ser determinadas en las concentraciones críticas de decisión médica; cabe mencionar que tanto el diseño del experimento, como los cálculos estadísticos utilizados son críticos para obtener estimaciones confiables de los errores sistemáticos (EMA, 2008).



Cuando la diferencia es pequeña entonces se dice que los dos métodos tienen relativamente la misma veracidad. Si la diferencia es grande y médicamente inaceptable, entonces es necesario identificar qué método es el inexacto o el exacto (EMA, 2008).

- Estudios de comparación interlaboratorio con base en los resultados de los programas de ensayos de aptitud.

Los materiales utilizados (suero, plasma, liofilizados, etc.) con un valor asignado por consenso en los programas de ensayos de aptitud pueden ser utilizados para la determinación de la veracidad o de la exactitud de medición. En este caso la demostración de la veracidad o de la exactitud de medición se limita a la confirmación por el método de prueba de que este se desempeña de manera similar al mismo método en otros laboratorios (EMA, 2008).

V.4 Incertidumbre.

Al realizar la validación o verificación de un método debe incluirse la estimación de la incertidumbre, donde el resultado final de medición deberá considerar las contribuciones de incertidumbre significativas y que no se encuentren incluidas en el diseño de la validación. Por ejemplo, preparación del paciente, muestreo, tipo de matriz, preparación de la muestra, entre otras. Esta prueba no se realiza en el departamento de Hematología del laboratorio de referencia internacional CARPERMOR, puesto que el departamento de calidad se encarga de realizar esta parte para la validación y verificación de métodos cuantitativos.

V.5 Acarreo o arrastre

Esta prueba demuestra que en las mediciones no existe contaminación entre una muestra y otra durante el proceso de medición. En la cual se realiza con una serie de muestras de valor alto y bajo en un orden específico. Dicha prueba no está incluida en la “Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico,” pero sí forma parte de las pruebas del procedimiento PRE-DLA-007 “Procedimiento específico para la selección, validación y verificación de métodos analíticos.”

V.6 Correlación

Es la forma estadística para evaluar la relación de dos o más variables, es decir, mide la dependencia de una variable con respecto de otra variable independiente, esta prueba se realiza para ver la relación que tiene las mediciones de los diferentes equipos con una misma muestra, de acuerdo al procedimiento del laboratorio de referencia internacional Carpermor PRE-DLA-007 “Procedimiento Específico para la selección, validación y verificación de métodos analíticos.”



JUSTIFICACION:

Un laboratorio clínico acreditado genera confianza en los resultados de examen que emite, ya que voluntariamente se ha sometido a una evaluación frente a estándares internacionales y altamente técnicos.

Los médicos basan gran parte de sus decisiones clínica en la información aportada por el laboratorio clínico, por lo que los pacientes requieren servicios de exámenes clínicos de calidad.

En este trabajo se realizó la verificación y validación de métodos cuantitativos basándose en el procedimiento PRE-DLA-007 “Procedimiento Especifico para la selección, validación y verificación de métodos analíticos,” en los equipos CELLDYN 3700 del “Laboratorio de referencia internacional Carpermor” como parte de los requerimientos técnicos para la acreditación de la NMX-EC-15189-IMNC / ISO 15189:2007.

México requiere mayor número de laboratorios acreditados que den certeza sobre los resultados de exámenes clínicos realizados, en apoyo a un buen diagnóstico y tratamiento médico.



OBJETIVO

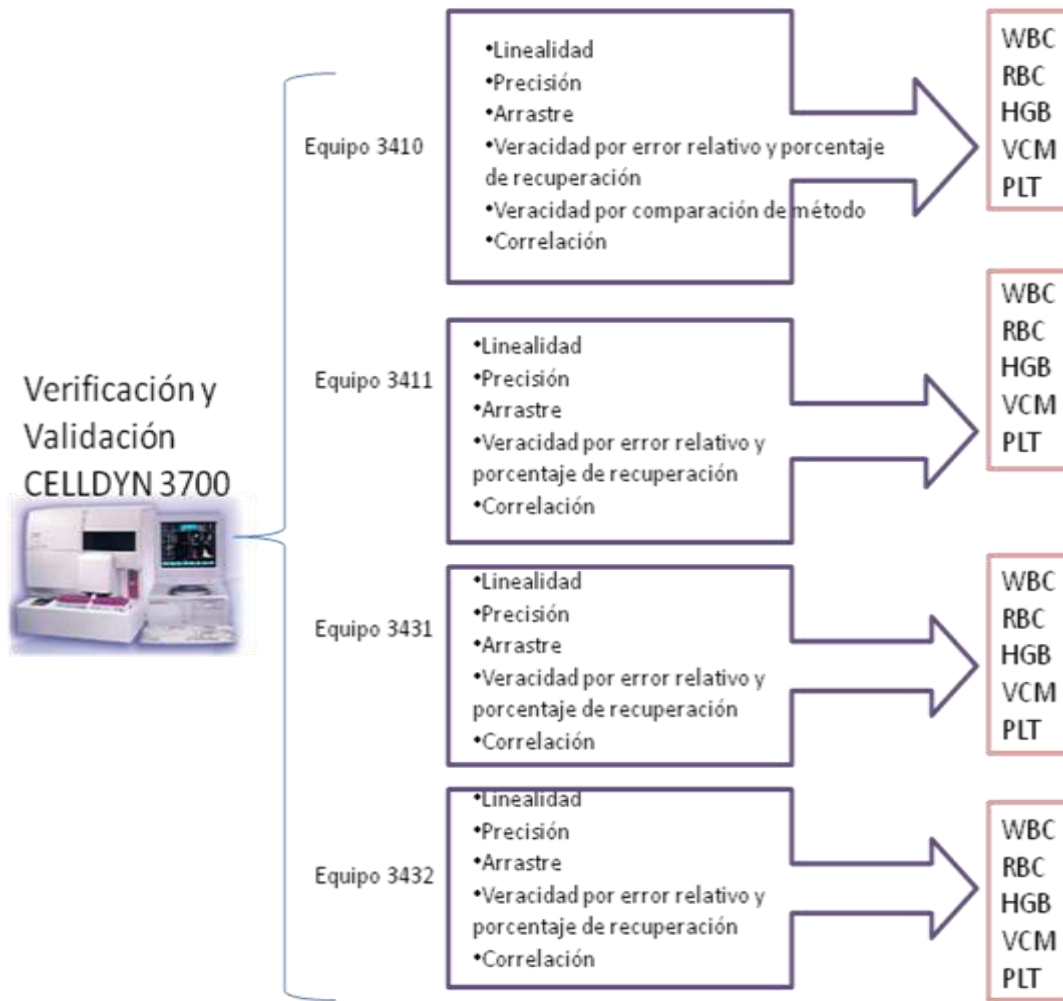
Verificar y validar los sistemas automatizados CELLDYN 3700 del departamento de Hematología del Laboratorio de referencia internacional Carpermor, mediante el procedimiento PRE-DLA-007 “Procedimiento Especifico para la selección, validación y verificación de métodos analíticos.” El cual está basado en la “Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico,” esto para asegurar que los resultados emitido son técnicamente validados, confiables, y con calidad, cumpliendo con la NMX-EC-15189-IMNC / ISO 15189:2007.

Objetivos particulares:

- Comprender la importancia de los parámetros de la biometría hemática empleados para validar y verificar el funcionamiento de los sistemas automatizados CELLDYN 3700.
- Entender la importancia que tienen cada uno de los criterios que conforman la validación y verificación de los sistemas automatizados CELLDYN 3700.
- Conocer la importancia de la validación y verificación de métodos cuantitativos en el laboratorio clínico.
- Aplicar los criterios utilizados para la validación y verificación de los procedimientos empleados en exámenes cuantitativos para los sistemas automatizados CELLDYN 3700.
- Interpretar los datos obtenidos para aceptar o rechazar la validación de los equipos.



DIAGRAMA DE TRABAJO



Los parámetros evaluados para cada criterio de la validación y verificación son, WBC, (cuenta de leucocitos), RBC (cuenta de eritrocitos), HGB (hemoglobina), VCM (volumen corpuscular medio) y PLT (plaquetas), a los cuatro equipos CELLDYN 3700.



METODOLOGÍA

LINEALIDAD

El procedimiento PRE-DLA-007 “Procedimiento Especifico para la selección, validación y verificación de métodos analíticos,” nos indica que la linealidad se realiza de acuerdo al procedimiento PRE-DLA-023”procedimientos específicos para la evaluación de la linealidad de métodos analíticos cuantitativos.”

Material: control de nivel bajo y control de nivel alto.

Procedimiento:

1. Se procesa por triplicado los controles bajo y alto.
2. Se obtiene la media aritmética de cada control del punto anterior.
3. Realizar las diluciones de los controles de la siguiente forma:

Tabla 1. Preparación de las diluciones para evaluar linealidad.

Número de dilución	Porción en volumen del CRTL B	Porción en volumen del CRTL A	Volúmenes agregados
1	Usar sin diluir	0	No se requiere preparación 1mL de control bajo.
2	3 partes	1 parte	750µL Control bajo + 250 µL Control alto
3	2 partes	2 partes	500 µL Control bajo + 500 µL Control alto
4	1 parte	3 partes	250µL Control bajo + 750 µL Control alto
5	0	Usar sin diluir	No se requiere preparación 1 mL de control alto.

Nota: en la preparación de las diluciones se garantiza realizar las replicas programadas y el volumen muerto.

4. Realizar el análisis de cada dilución cuatro veces en cada equipo CELLDYN 3700.
5. Tabular los datos de forma que se visualice la dilución y la media obtenida de las 4 mediciones, de acuerdo a la tabla 2.



Tabla 2. Ejemplo de la tabla de resultados para las diluciones al evaluar la linealidad.

Parámetro: _____

DILUCIÓN	Equipo 3410	Equipo 3411	Equipo 3431	Equipo 3432
1				
media				
2				
media				
3				
media				
4				
media				
5				
media				

6. Obtener la concentración teórica de las diluciones mediante la tabla 3. Tomando en cuenta el porcentaje contenido en cada dilución.



Tabla3. Ejemplo para visualizar la concentración teórica de las diluciones

Nº de dilución	CRTL B esperado	CRTL A esperado	CRTL A %	CRTL A %	CRTL B + CRTL A concentración teórica
1			100%	0%	
2			75%	25%	
3			50%	50%	
4			25%	75%	
5			0%	100%	

7. Construir un grafico con la media aritmética de las replicas sobre el eje Y (ordenadas), en función de la concentración teórica de las diluciones (valor conocido) sobre el eje X.
8. Calcular la ecuación de la recta para los puntos dados, como también el coeficiente de correlación de por lo menos 99.11, el coeficiente de correlación permite estimar la relación entre dos propiedades y de esta manera si los puntos experimentales siguen una función lineal.
9. Realizar la validación del intervalo reportable, mediante el cálculo del sesgo (desviación) para cada nivel, obteniendo la diferencia del valor de la media de cada dilución y su valor teórico cuyo valor será colocado en la columna 4 de la tabla 4.
10. Calcular el porcentaje de error dividiendo el sesgo (desviación) entre el valor teórico y el resultado multiplicado por 100.

Tabla 4. Ejemplo para reportar la cuantificación de errores en el intervalo reportable.

Parámetro: _____

	Dilución	Media	Valor teórico	Sesgo	% error
Equipo	1				
	2				
	3				
	4				
	5				



PRECISIÓN

El procedimiento PRE-DLA-007 “Procedimiento Especifico para la selección, validación y verificación de métodos analíticos,” nos indica que la precisión se realiza de acuerdo al procedimiento PRE-DLA-024”procedimientos específicos para la evaluación de la exactitud de métodos analíticos cuantitativos.”

Material: Control de nivel bajo y Control de nivel alto.

Procedimiento:

1. Realizar 20 veces continuas el proceso del control alto y 20 veces continuas el control bajo en el equipo CELLDYN 3700.
2. Obtener la media aritmética, desviación estándar, coeficiente de variación. para cada uno de los controles y los parámetros evaluados.
3. Construir la tabla de precisión como se muestra en la tabla 5.

Tabla 5. Ejemplo para reportar precisión.

Equipo: _____

MUESTRA	WBC	RBC	HGB	VCM	PLT
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
MEDIA					
DE					
CV					



ARRASTRE O ACARREO

El procedimiento PRE-DLA-007 “Procedimiento específico para la selección, validación y verificación de métodos analíticos.” Indica el procedimiento para la realización del arrastre o acarreo.

Material: 11 Controles de nivel bajos y 10 Controles de nivel alto

Procedimiento:

1. Se realiza la metodología de acuerdo al protocolo de arrastre establecido por Carpermor.
2. Se coloca los controles para su proceso con el siguiente orden:

L1-L2-L3-H1-H2-L4-H3-H4-L5-L6-L7-L8-H5-H6-L9-H7-H8-L10-H9-H10-L11.

Donde L es el control de nivel bajo y H el control de nivel alto.

3. Obtener el promedio de los resultados L2, L3, L6, L7 y L8 de cada analito en estudio. A esto se le llama promedio “bajo-bajo” porque una muestra baja sigue a una muestra baja, llenar la tabla 6.

Tabla 6. Ejemplo para reportar el promedio “bajo-bajo”

Equipo: _____ Parámetro: _____

	<i>PROMEDIO BAJO-BAJO</i>					
	L2	L3	L6	L7	L8	MEDIA
WBC						
RBC						
HGB						
VCM						
PLT						

4. Obtener el promedio de los resultados L4, L5, L9 y L10 a cada analito en estudio. A esto se le llama media “alto-bajo”, significando que una muestra baja sigue a una muestra alta, llenar la tabla 7.



Tabla 7. Ejemplo para el reporte de la media “alto -bajo”

Equipo: _____ Parámetro: _____

	<i>MEDIA DE ALTO-BAJO</i>				
	L4	L5	L9	L10	MEDIA
WBC					
RBC					
HGB					
VCM					
PLT					

5. Calcular el acarreo de cada analito en estudio, sacando la diferencia de la media “alto-bajo” menos el promedio “bajo-bajo” y llenando la tabla 8.

Tabla 8. Ejemplo diferencia de medias.

Equipo: _____ Parámetro: _____

	<i>DIFERENCIA DE MEDIAS</i>		
	A-B	B-B	DIF
WBC			
RBC			
HGB			
VCM			
PLT			

6. Concluir si hay arrastre.



VERACIDAD POR ERROR RELATIVO Y PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN

El procedimiento PRE-DLA-007 “Procedimiento Especifico para la selección, validación y verificación de métodos analíticos,” nos indica cómo se obtiene el error relativo y el porcentaje de recuperación.

Material: Control de nivel normal

Procedimiento:

1. Se repite 20 veces el proceso del control normal en un equipo CELLDYN 3700.
2. Se Obtiene la media aritmética de cada parámetro evaluado.
3. Se procede a la obtención de error relativo mediante el cálculo:

$$\% \text{ Error Relativo} = [(\text{Valor real} - \text{Valor media}) / \text{Valor real}] \times 100$$

Nota: se toma como valor real el valor que nos da el fabricante en la carta control.

4. Se obtiene el porcentaje de recuperación mediante la fórmula:
$$\% \text{ de Recuperación} = (\text{Valor media} / \text{Valor de la media}) \times 100$$
5. Para una mejor visualización del los resultados llenar la tabla 9. Veracidad.

Tabla 9. Ejemplo para reportar la veracidad.

Equipo: _____

MUESTRA	WBC	RBC	HGB	MCV	PLQ
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
VALOR REAL					
MEDIA					
% DE ERROR RELATIVO					
%RECUPERACIÓN					



VERACIDAD POR COMPARCIÓN DE MÉTODOS.

Procedimiento utilizado PRE-DLA-024 “procedimientos específicos para la evaluación de la exactitud de métodos analíticos cuantitativos.”

Material: Se seleccionan 20 muestras frescas con diferentes concentraciones, procurando cubrir el rango lineal del método.

Procedimiento:

1. Se realiza el análisis de 20 muestras en dos sistemas automatizados ADVIA 120 Y CELLDYN 3700. Donde el método de prueba es el CELLDYN 3700 y el método de comparación es el ADVIA 120, el análisis debe ser de preferencia en el mismo día para los dos métodos y se recomienda que las muestras sean analizadas dentro de un periodo máximo de 2 horas entre un método y el otro.
2. Obtención de la delta de cada muestra analizada en los dos sistemas automatizados (método de prueba menos el método de comparación) para cada uno de los parámetros analizados.
3. Obtención del Promedio de cada uno de los parámetros analizados, por los dos métodos y obtener el promedio de la delta de los métodos comparados.
4. Llenar la tabla 10 que ejemplifica el reporte para un solo parámetro evaluado de la biometría hemática. Obtener desviación estándar “DS” de la delta de comparación y obtener 2DS, 3DS, promedio +/- 2DS y promedio +/- 3DS.

Tabla 10.Ejemplo para reportar los resultados por comparación de métodos.

Equipo: _____

Parámetro: _____

Nº de muestra	CELLDYN 3700	ADVIA 120	DELTA
Promedio			
DS			
2 DS			
Prom-2DS			
Prom+2DS			
3DS			
Prom-3DS			
Prom+3DS			



5. Construcción del Gráfico de concordancia, donde en el eje X se grafica la concentración obtenida del método de comparación y en el eje Y la delta de los métodos, los valores deben aparecer cerca de la “línea de diferencias nulas”, aproximadamente en la misma proporción por encima y por debajo de la línea, delimitar donde se encuentra +/- 2DS.
6. Construcción del Gráfico de correlación para cada uno de los parámetros evaluados, donde los datos del método de prueba va en el eje Y, y los datos del método de comparación en el eje X.
7. Trazar en el grafico de correlación la mejor recta mediante regresión lineal, con lo que se obtiene la pendiente y la intersección al origen: $Y = mX + b$

Donde:

m = pendiente

b = intercepto en Y u ordenada al origen

X = valor del método de comparación

Y = valor del método de prueba



CORRELACIÓN

El procedimiento PRE-DLA-007 “Procedimiento Especifico para la selección, validación y verificación de métodos analíticos,” nos señala que se realice una correlación de los cuatro sistemas automatizados CELLDYN 3700, comparando con el sistema automatizado ADVIA 120, como método de comparación.

Material: 30 muestras aforadas aproximadamente con 4mL.

Procedimiento:

1. Realizar el análisis de las muestras en cada uno de los 5 sistemas automatizados.
2. Obtener los datos de WBC, RBC, HGB, VCM, PLT de cada uno de los cinco sistemas automatizados y separa por analito.
3. Construcción del Gráfico de correlación para cada uno de los parámetros evaluados, donde los datos de cada uno de los sistemas automatizados CELLDYN 3700 van en el eje Y, y los datos del método de comparación que es el AVDIA 120, en el eje X.
4. Trazar en el grafico de correlación para cada uno de los sistemas automatizados CELLDYN 3700 la mejor recta mediante regresión lineal, con lo que se obtiene la pendiente y la intersección al origen: $Y = mX + b$



RESULTADOS

LINEALIDAD

Tabla 11. Media de los controles para los parámetros evaluados.

Parámetro	BAJO	ALTO
WBC	4	16.4
RBC	2.9	5.18
HGB	7.7	16.4
VCM	80	93.5
PLT	79	552

Linealidad de leucocitos

Tabla 12. Concentración teórica de las diluciones para la evaluación de linealidad en leucocitos.

M1	M2			X
esperado	esperado	M1	M2	Σ
4.00	0.00	100%	0%	4
3.00	4.10	75%	25%	7.1
2.00	8.20	50%	50%	10.2
1.00	12.30	25%	75%	13.3
0.00	16.40	0%	100%	16.4



Tabla 13. Resultados obtenidos en la evaluación de linealidad en leucocitos.

DILUCIÓN	3410	3411	3431	3432
1	4.24	4.24	4.15	4.40
	4.15	4.06	4.07	4.08
	4.15	4.01	3.97	3.93
	4.11	4.00	4.18	3.66
media	4.16	4.08	4.09	4.02
2	7.42	7.16	7.36	7.60
	7.66	7.10	7.23	8.00
	7.33	7.06	7.57	7.60
	7.42	7.18	7.31	7.50
media	7.46	7.13	7.37	7.68
3	10.30	9.93	10.00	10.20
	10.40	10.00	10.10	10.50
	10.40	10.30	9.87	9.96
	10.50	10.40	10.30	10.60
media	10.40	10.16	10.70	10.32
4	13.30	13.40	13.30	13.20
	13.50	13.50	13.50	13.90
	13.70	13.20	13.10	13.30
	13.50	13.50	13.40	13.20
media	13.50	13.40	13.33	13.40
5	16.70	16.10	16.10	15.80
	16.60	15.70	15.70	17.00
	16.50	16.30	16.30	17.20
	16.50	16.70	16.70	17.50
media	16.58	16.20	16.20	16.88

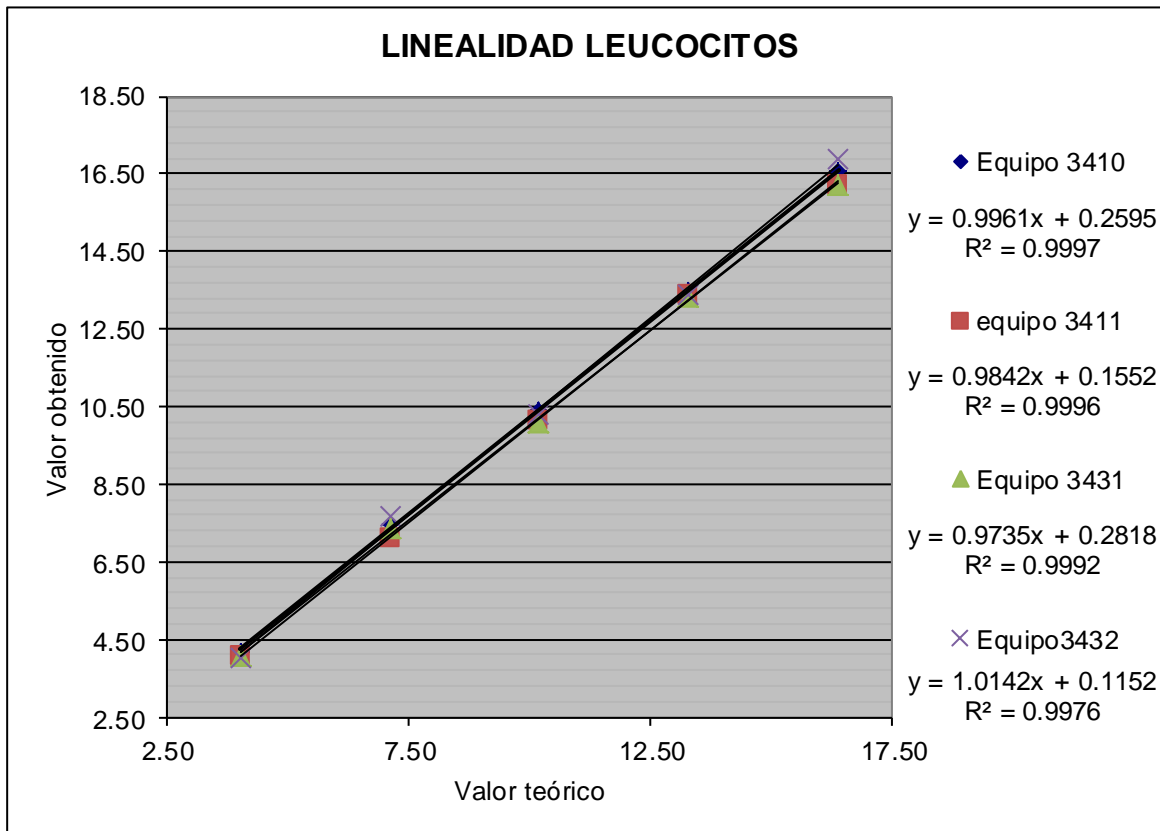


Tabla 14. Cuantificación del error en el intervalo reportable para leucocitos.

3410	Dilución	Media	Valor teórico	Sesgo	% error
	1	4.16	4.00	0.16	4.00
	2	7.46	7.10	0.36	5.07
	3	10.40	10.20	0.20	1.96
	4	13.50	13.30	0.20	1.50
	5	16.58	16.40	0.18	1.07
3411	Dilución	Media	Valor teórico	Sesgo	% error
	1	4.08	4.00	0.08	2.00
	2	7.13	7.10	0.03	0.42
	3	10.16	10.20	-0.04	-0.44
	4	13.40	13.30	0.10	0.75
	5	16.20	16.40	-0.20	-1.22
3431	Dilución	Media	Valor teórico	Sesgo	% error
	1	4.09	4.00	0.09	2.25
	2	7.37	7.10	0.27	3.80
	3	10.07	10.20	-0.13	-1.30
	4	13.33	13.30	0.02	0.19
	5	16.20	16.40	-0.20	-1.22
3432	Dilución	Media	Valor teórico	Sesgo	% error
	1	4.02	4.00	0.02	0.50
	2	7.68	7.10	0.58	8.17
	3	10.32	10.20	0.12	1.13
	4	13.40	13.30	0.10	0.75
	5	16.88	16.40	0.48	2.90



Grafico 1. Linealidad de leucocitos.



Linealidad de eritrocitos

Tabla 15. Concentración teórica de las diluciones para la evaluación de linealidad en eritrocitos.

M1	M2			X
esperado	esperado	M1	M2	Σ
2.90	0.00	100%	0%	2.90
2.18	1.29	75%	25%	3.47
1.45	2.59	50%	50%	4.04
0.73	3.88	25%	75%	4.61
0.00	5.18	0%	100%	5.18



Tabla 16. Resultados obtenidos en la evaluación de linealidad para eritrocitos.

DILUCIÓN	3410	3411	3431	3432
1	2.86	3.10	3.00	2.96
	2.92	3.00	2.95	2.89
	2.94	3.00	2.97	2.85
	2.91	3.03	2.97	2.86
media	2.91	3.03	2.97	2.98
2	3.58	3.56	3.80	3.80
	3.72	3.57	3.80	3.80
	3.59	3.64	3.85	3.80
	3.58	3.61	3.80	3.80
media	3.62	3.60	3.81	3.80
3	4.11	4.00	4.07	4.09
	4.01	4.03	3.97	4.05
	4.04	4.04	4.01	4.08
	4.07	4.08	3.98	4.18
media	4.06	4.04	4.01	4.10
4	4.66	4.59	4.64	4.73
	4.63	4.67	4.60	4.71
	4.66	4.62	4.66	4.78
	4.64	4.66	4.61	4.71
media	4.65	4.64	4.63	4.73
5	5.17	5.12	5.12	5.23
	5.24	5.12	5.12	5.31
	5.22	5.21	5.21	5.34
	5.21	5.20	5.20	5.35
media	5.21	5.16	5.16	5.31

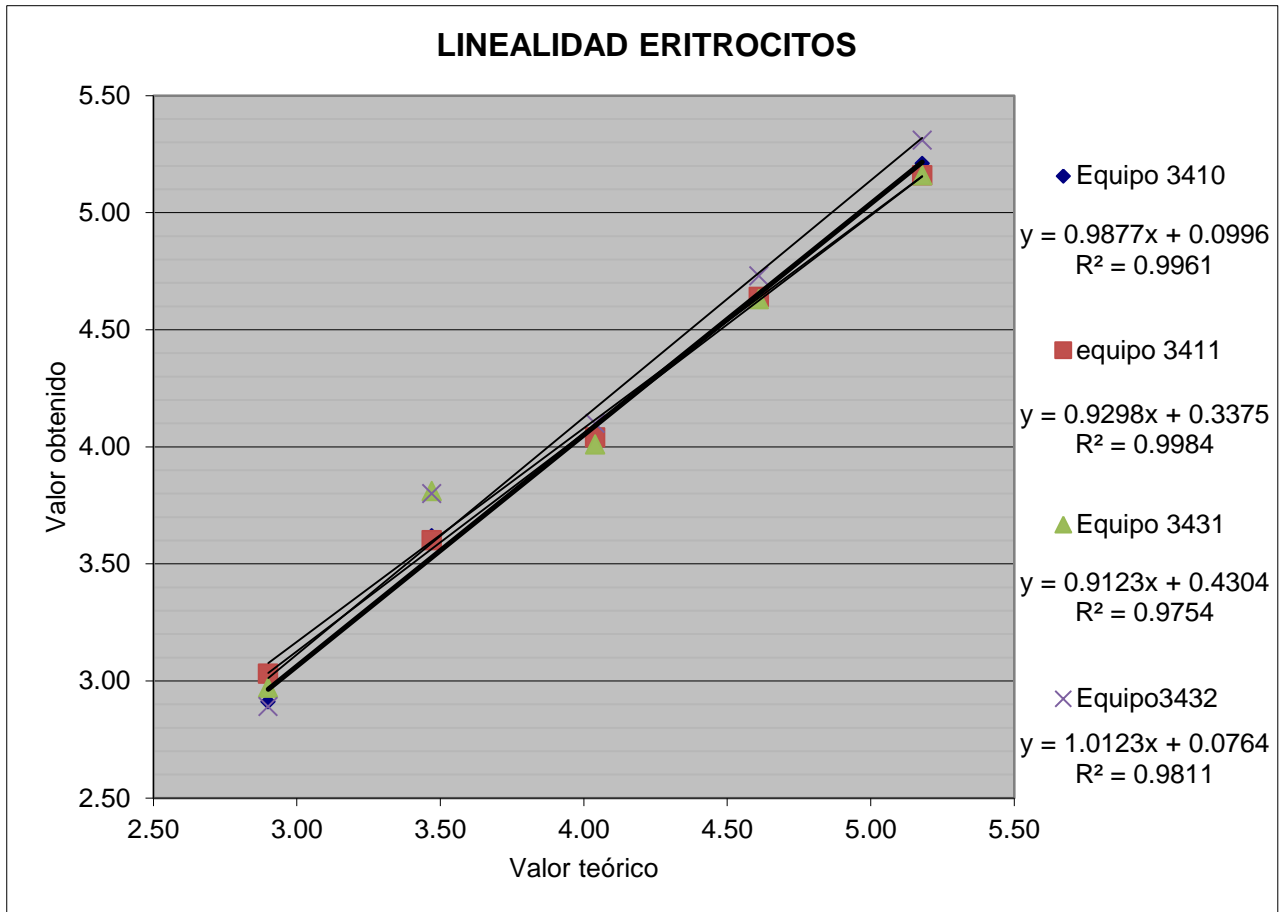


Tabla 17. Cuantificación del error en el intervalo reportable para eritrocitos.

3410	Dilución	Media	Valor teórico	Sesgo	% error
	1	2.91	2.90	0.01	0.26
	2	3.62	3.47	0.15	4.25
	3	4.06	4.04	0.02	0.43
	4	4.65	4.61	0.04	0.81
	5	5.21	5.18	0.03	0.58
3411	Dilución	Media	Valor teórico	Sesgo	% error
	1	3.03	2.90	0.13	4.57
	2	3.60	3.47	0.13	3.60
	3	4.04	4.04	0.00	-0.06
	4	4.64	4.61	0.02	0.54
	5	5.16	5.18	-0.02	-0.34
3431	Dilución	Media	Valor teórico	Sesgo	% error
	1	2.97	2.90	0.07	2.50
	2	3.81	3.47	0.34	9.80
	3	4.01	4.04	-0.03	-0.80
	4	4.63	4.61	0.02	0.38
	5	5.16	5.18	-0.02	-0.34
3432	Dilución	Media	Valor teórico	Sesgo	% error
	1	2.89	2.90	-0.01	-0.34
	2	3.80	3.47	0.33	9.51
	3	4.10	4.04	0.06	1.49
	4	4.73	4.61	0.12	2.66
	5	5.31	5.18	0.13	2.46



Grafico 2. Linealidad de eritrocitos.



Linealidad de hemoglobina.

Tabla 18. Concentración teórica de las diluciones para evaluar la linealidad de hemoglobina.

M1	M2			X
esperado	esperado	M1	M2	Σ
7.70	0.00	100%	0%	7.70
5.78	4.10	75%	25%	9.88
3.85	8.20	50%	50%	12.05
1.93	12.30	25%	75%	14.23
0.00	16.40	0%	100%	16.40



Tabla 19. Resultados obtenidos en la evaluación de linealidad para hemoglobina.

DILUCIÓN	3410	3411	3431	3432
1	7.54	8.08	7.85	7.79
	7.78	7.89	7.92	7.66
	7.85	7.92	7.90	7.62
	7.78	8.03	7.96	7.62
media	7.74	7.98	7.91	7.67
2	10.30	10.10	10.80	10.00
	10.20	10.10	10.80	10.00
	10.40	10.30	10.90	11.00
	10.50	10.10	10.80	11.00
media	10.35	10.15	10.83	10.50
3	12.30	2.00	12.00	12.10
	12.30	12.00	11.90	12.10
	12.30	11.90	11.90	12.00
	12.10	12.10	11.90	12.30
media	12.25	12.00	11.93	12.13
4	14.50	14.30	14.40	14.50
	14.70	14.40	14.30	14.60
	14.50	14.30	14.30	14.70
	14.40	14.60	14.30	14.40
media	14.53	14.40	14.33	14.55
5	16.70	16.50	16.50	16.40
	16.70	16.40	16.40	16.80
	16.70	16.50	16.50	16.80
	16.60	16.70	16.70	16.80
media	16.68	16.53	16.53	16.70

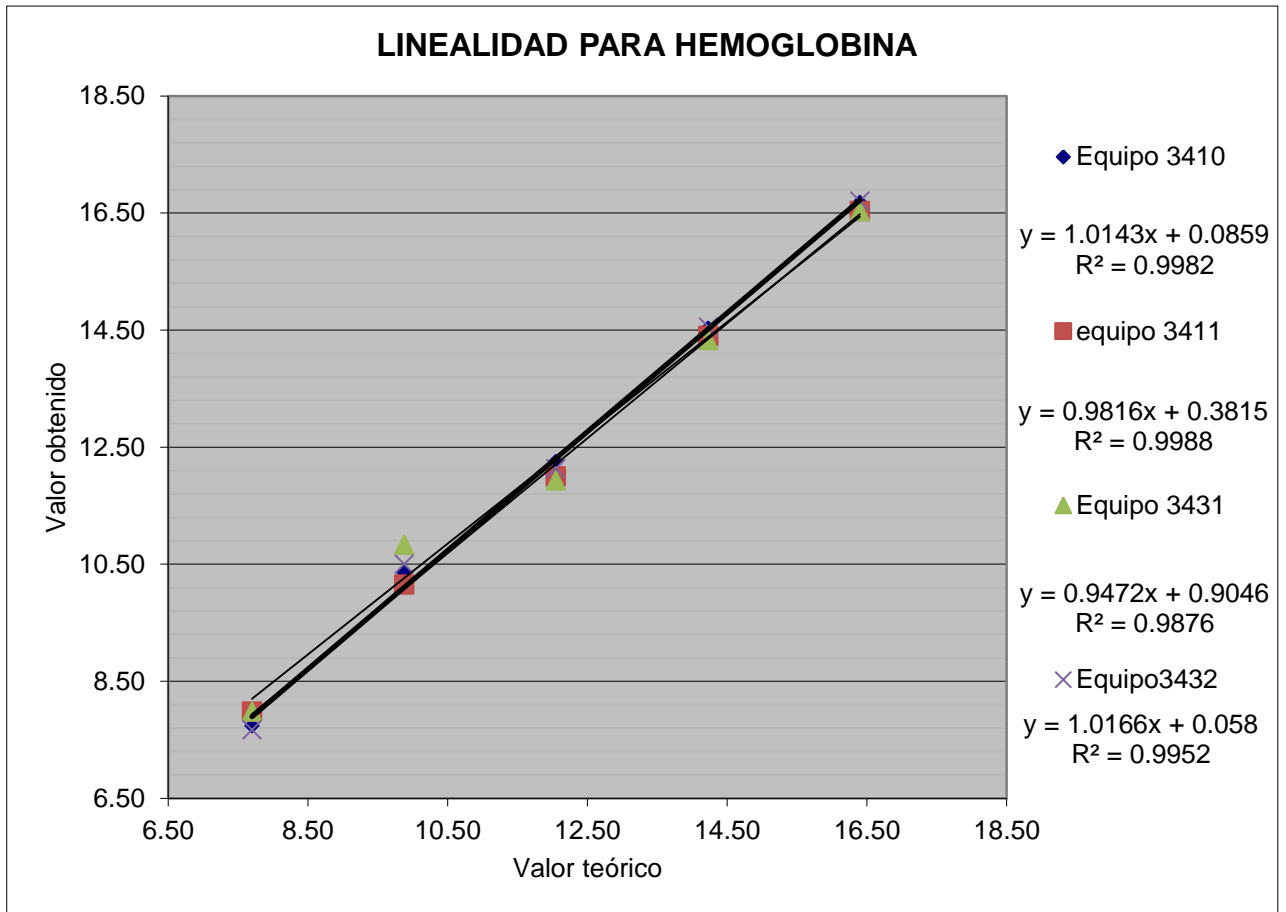


Tabla 20. Cuantificación del error en el intervalo reportable para hemoglobina.

	Dilución	Media	Valor teórico	Sesgo	% error
	3410	1	7.74	7.70	0.04
2		10.35	9.88	0.47	4.76
3		12.25	12.05	0.20	1.66
4		14.53	14.23	0.30	2.07
5		16.68	16.40	0.27	1.68
3411		Dilución	Media	Valor teórico	Sesgo
	1	7.98	7.70	0.28	3.64
	2	10.15	9.88	0.27	2.73
	3	12.00	12.05	-0.05	-0.41
	4	14.40	14.23	0.17	1.19
	5	16.53	16.40	0.13	0.76
3431	Dilución	Media	Valor teórico	Sesgo	% error
	1	7.98	7.70	0.28	3.64
	2	10.83	9.88	0.94	9.56
	3	11.93	12.05	-0.13	-1.04
	4	14.33	14.23	0.09	0.67
	5	16.53	16.40	0.13	0.76
3432	Dilución	Media	Valor teórico	Sesgo	% error
	1	7.67	7.70	-0.03	-0.39
	2	10.50	9.88	0.62	6.28
	3	12.13	12.05	0.07	0.62
	4	14.55	14.23	0.32	2.25
	5	16.70	16.40	0.30	1.83



Grafico 3. Linealidad de la hemoglobina.



Linealidad de VCM.

Tabla 21. Resultados teóricos de las diluciones para la evaluación de linealidad del VCM.

M1	M2			X
esperado	esperado	M1	M2	Σ
80.00	0.00	100%	0%	80.00
60.00	23.38	75%	25%	83.38
40.00	46.75	50%	50%	86.75
20.00	70.13	25%	75%	90.13
0.00	93.50	0%	100%	93.50



Tabla 22. Resultados obtenidos en la evaluación de linealidad para VCM.

DILUCIÓN	3410	3411	3431	3432
1	80.80	79.90	79.20	79.60
	80.50	79.30	78.90	79.30
	80.40	79.30	78.90	79.60
	80.50	79.30	79.20	79.30
media	80.55	79.45	79.05	79.45
2	85.10	84.30	84.20	83.50
	85.20	84.10	84.20	84.00
	85.50	84.70	84.30	84.00
	85.00	84.50	84.00	83.90
media	85.20	84.40	84.18	83.85
3	88.90	87.90	87.90	88.00
	88.50	87.90	88.00	87.80
	88.70	88.30	87.80	87.60
	88.40	88.20	88.60	87.70
media	88.63	88.08	88.08	87.78
4	91.00	90.60	90.40	90.00
	91.00	90.50	90.80	90.60
	91.50	90.60	90.40	89.50
	90.70	90.50	90.70	90.40
media	91.05	90.55	90.58	90.13
5	93.80	92.70	92.70	92.20
	93.20	92.40	92.40	91.90
	93.20	91.80	91.80	92.00
	93.20	92.50	92.50	92.20
media	93.35	92.35	92.35	92.08

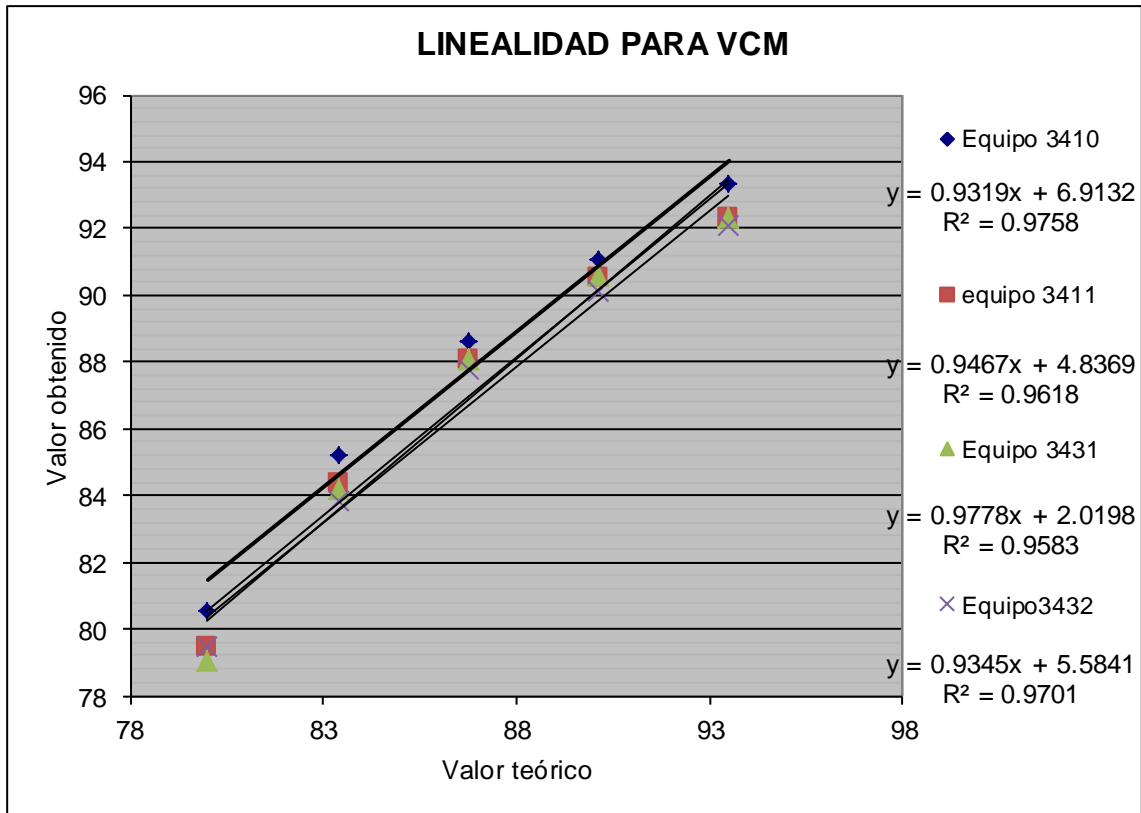


Tabla 23. Cuantificación del error en el intervalo reportable para VCM.

3410	Dilución	Media	Valor teórico	Sesgo	% error
	1	80.55	80.00	0.55	0.69
	2	85.20	83.38	1.82	2.18
	3	88.63	86.75	1.88	2.16
	4	91.05	90.13	0.92	1.02
	5	93.35	93.50	-0.15	-0.16
3411	Dilución	Media	Valor teórico	Sesgo	% error
	1	79.45	80.00	-0.55	-0.69
	2	84.40	83.38	1.02	1.22
	3	88.08	86.75	1.33	1.53
	4	90.55	90.13	0.42	0.47
	5	92.35	93.50	-1.15	-1.23
3431	Dilución	Media	Valor teórico	Sesgo	% error
	1	79.05	80.00	-0.95	-1.19
	2	84.18	83.38	0.80	0.95
	3	88.08	86.75	1.32	1.53
	4	90.58	90.13	0.45	0.49
	5	92.35	93.50	-1.15	-1.23
3432	Dilución	Media	Valor teórico	Sesgo	% error
	1	79.45	80.00	-0.55	-0.69
	2	83.85	83.38	0.47	0.56
	3	87.78	86.75	1.02	1.18
	4	90.13	90.13	0.00	-0.01
	5	92.08	93.50	-1.43	-1.52



Grafico 4. Linealidad del VCM.



Linealidad de plaquetas.

Tabla 24. Concentración teórica de las diluciones para la evaluación de la linealidad en plaquetas.

M1	M2			X
esperado	esperado	M1	M2	Σ
79.00	0.00	100%	0%	79.00
59.25	138.00	75%	25%	197.25
39.50	276.00	50%	50%	315.50
19.75	414.00	25%	75%	433.75
0.00	552.00	0%	100%	552.00



Tabla 25. Resultados obtenidos en la evaluación de linealidad en plaquetas.

DILUCIÓN	3410	3411	3431	3432
1	77.50	88.50	96.00	85.00
	81.00	86.40	97.00	87.00
	81.30	90.20	92.00	87.00
	77.50	97.00	94.00	82.00
media	79.33	90.53	94.75	85.25
2	195.00	211.00	210.00	216.00
	204.00	213.00	226.00	223.00
	191.00	220.00	203.00	230.00
	193.00	214.00	216.00	228.00
media	195.75	214.50	213.75	224.25
3	302.00	340.00	345.00	330.00
	315.00	336.00	335.00	323.00
	294.00	325.00	333.00	336.00
	307.00	335.00	325.00	344.00
media	304.50	334.00	334.50	333.25
4	427.00	476.00	469.00	468.00
	416.00	494.00	450.00	470.00
	415.00	461.00	455.00	465.00
	427.00	468.00	454.00	457.00
media	421.25	474.75	457.00	467.00
5	531.00	577.00	577.00	576.00
	536.00	580.00	580.00	564.00
	533.00	577.00	577.00	567.00
	517.00	578.00	578.00	587.00
media	529.25	578.00	578.00	573.50

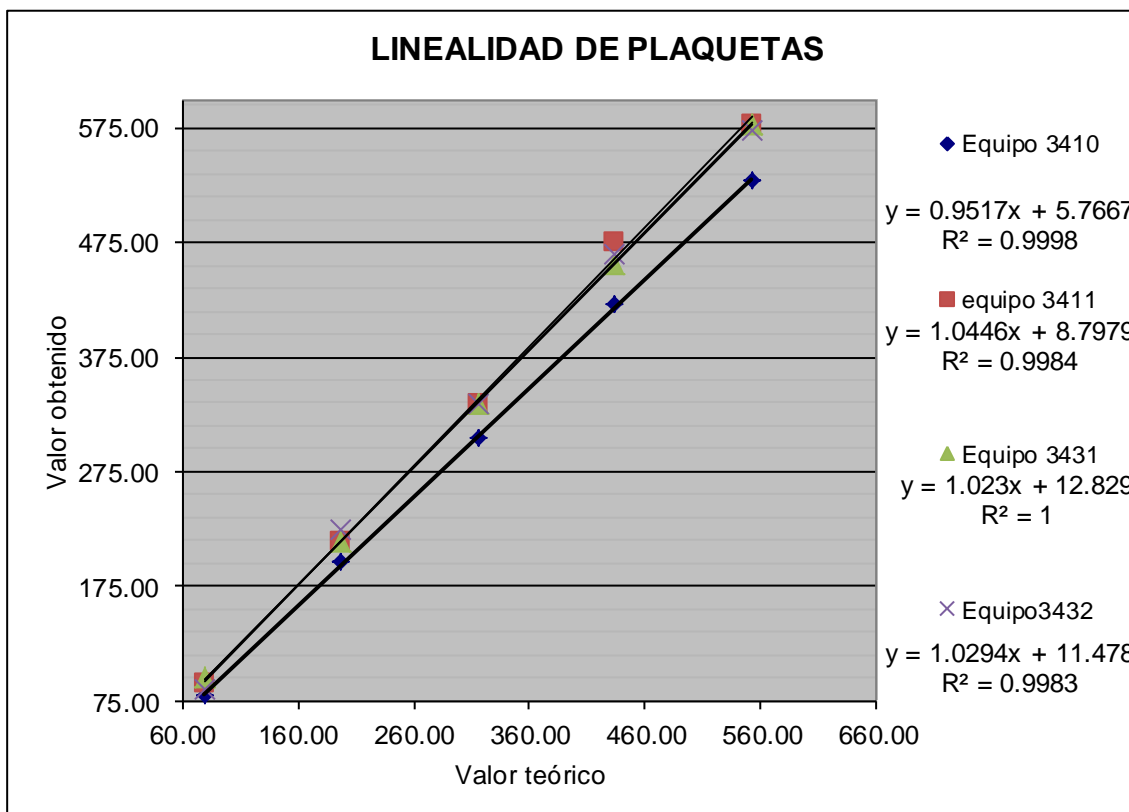


Tabla 26. Cuantificación del error en el intervalo reportable en plaquetas.

	Dilución	Media	Valor teórico	Sesgo	% error
3410	1	79.33	79.00	0.33	0.41
	2	195.75	197.25	-1.50	-0.76
	3	304.50	315.50	-11.00	-3.49
	4	421.25	433.75	-12.50	-2.88
	5	529.25	552.00	-22.75	-4.12
	Dilución	Media	Valor teórico	Sesgo	% error
3411	1	90.53	79.00	11.53	14.59
	2	214.50	197.25	17.25	8.75
	3	334.00	315.50	18.50	5.86
	4	474.75	433.75	41.00	9.45
	5	578.00	552.00	26.00	4.71
	Dilución	Media	Valor teórico	Sesgo	% error
3431	1	94.75	79.00	15.75	19.94
	2	213.75	197.25	16.50	8.37
	3	334.50	315.50	19.00	6.02
	4	457.00	433.75	23.25	5.36
	5	578.00	552.00	26.00	4.71
	Dilución	Media	Valor teórico	Sesgo	% error
3432	1	85.25	79.00	6.25	7.91
	2	224.25	197.25	27.00	13.69
	3	333.25	315.50	17.75	5.63
	4	465.00	433.75	31.25	7.20
	5	573.50	552.00	21.50	3.89



Grafico 5. Linealidad en plaquetas.





PRECISIÓN

Equipo 3410.

Tabla 27. Precisión control alto equipo 3410.

Muestra	WBC	RBC	HGB	VCM	PLT
1	16.10	5.15	16.3	93.1	536
2	16.00	5.17	16.6	93.7	531
3	15.80	5.10	16.4	93.2	535
4	16.30	5.09	16.3	93.2	537
5	16.20	5.08	16.4	93.5	537
6	16.20	5.11	16.5	93.6	529
7	16.20	5.19	16.5	93.4	525
8	16.10	5.05	16.2	93.7	510
9	16.40	5.13	16.3	94.1	509
10	15.70	5.07	16.1	94.0	507
11	16.00	5.10	16.2	94.0	532
12	16.20	5.13	16.3	94.0	530
13	16.30	5.08	16.4	93.7	522
14	16.40	5.24	16.4	93.5	515
15	16.40	5.22	16.5	93.6	524
16	15.80	5.19	16.4	93.7	519
17	16.10	5.15	16.5	93.6	522
18	15.90	5.06	15.8	92.9	533
19	16.30	5.18	16.6	92.9	539
20	16.60	5.16	16.5	93.0	537
MEDIA	16.15	5.13	16.36	93.52	526.45
DE	0.23	0.05	0.19	0.37	10.15
CV	1.44	1.07	1.15	0.40	1.93

Tabla 28. Precisión control bajo equipo 3410.

Muestra	WBC	RBC	HGB	VCM	PLT
1	4.09	2.99	7.96	79.8	82.4
2	4.08	2.98	7.89	80.0	81.1
3	4.10	2.95	7.87	79.1	83.4
4	4.02	2.94	7.80	79.8	77.8
5	4.14	3.00	8.00	80.6	78.1
6	4.15	2.99	8.00	80.5	76.9
7	4.13	2.94	7.92	79.9	74.2
8	4.12	2.99	7.89	80.6	76.1
9	4.02	2.96	8.08	79.6	87.3
10	4.18	2.99	7.94	80.5	76.2
11	4.24	3.01	7.95	80.3	82.5
12	4.28	2.99	8.04	80.6	76.6
13	4.29	2.96	7.95	79.9	80.0
14	4.21	2.93	7.93	80.6	79.0
15	4.07	3.00	7.97	79.5	85.4
16	4.11	3.02	8.01	80.0	78.1
17	4.3	2.96	7.93	80.1	76.2
18	4.19	2.94	7.95	80.4	77.0
19	4.08	3.04	8.13	79.9	74.4
20	4.03	3.00	8.01	80.2	76.0
MEDIA	4.14	2.98	7.96	80.10	78.94
DE	0.09	0.03	0.07	0.42	3.65
CV	2.11	1.01	0.94	0.53	4.62



Equipo 3411.

Tabla 29. Precisión control alto equipo 3411.

Muestra	WBC	RBC	HGB	VCM	PLT
1	16.30	5.20	16.1	92.9	583
2	16.00	5.09	16.2	92.8	579
3	16.00	5.12	16.2	92.8	576
4	15.80	5.15	16.1	92.7	595
5	16.30	5.08	16.2	92.6	574
6	16.10	5.08	16.2	92.8	595
7	16.10	5.19	16.3	93.2	571
8	15.60	5.07	16.1	93.0	563
9	15.80	5.02	16.1	93.0	577
10	16.40	5.14	16.2	92.7	591
11	15.90	5.12	16.0	92.8	571
12	15.60	5.20	16.2	92.9	583
13	16.00	5.11	16.3	93.1	571
14	16.20	5.13	16.4	93.0	578
15	16.00	5.10	16.3	92.4	559
16	15.90	5.16	16.3	92.8	582
17	16.00	5.18	16.2	93.2	593
18	16.10	5.07	16.3	92.6	576
19	16.00	5.03	15.8	92.3	586
20	16.00	5.00	15.7	92.2	569
MEDIA	16.01	5.11	16.16	92.79	578.60
DE	0.21	0.06	0.17	0.27	10.09
CV	1.31	1.15	1.05	0.29	1.74

Tabla 30. Precisión control bajo equipo 3411.

Muestra	WBC	RBC	HGB	VCM	PLT
1	4.10	3.01	7.89	79.4	95.0
2	3.89	2.97	7.88	79.5	87.1
3	4.13	2.95	7.89	79.6	90.1
4	4.14	3.00	7.87	79.7	96.7
5	4.08	2.95	7.86	80.1	91.6
6	4.04	2.95	7.86	80.0	91.1
7	4.18	2.93	7.86	79.8	86.4
8	4.16	3.00	7.84	79.6	90.4
9	4.03	2.99	7.87	79.7	94.8
10	4.14	2.99	7.94	80.1	91.3
11	3.99	2.96	7.84	80.5	88.6
12	4.07	2.96	7.93	80.5	84.8
13	4.14	2.99	7.94	80.5	80.7
14	4.14	2.98	7.88	80.8	89.9
15	4.20	3.00	7.86	79.9	91.4
16	4.10	2.89	7.84	79.4	94.7
17	3.98	2.92	7.76	79.9	93.0
18	4.12	2.97	7.89	80.4	86.9
19	4.15	2.97	7.90	80.3	88.3
20	4.08	2.99	7.99	80.6	88.1
MEDIA	4.09	2.97	7.88	80.02	90.05
DE	0.08	0.03	0.05	0.43	3.87
CV	1.86	1.03	0.61	0.54	4.30



Equipo 3431.

Tabla 31. Precisión control alto equipo 3431.

Muestra	WBC	RBC	HGB	VCM	PLT
1	18.20	5.17	16.1	92.0	446
2	18.20	5.12	16.2	91.6	459
3	18.10	5.16	16.2	91.4	481
4	18.20	5.14	16.2	91.6	463
5	18.20	5.13	16.2	91.7	476
6	18.00	5.18	16.1	91.3	492
7	18.30	5.15	16.2	91.6	485
8	18.30	5.21	16.2	91.4	487
9	18.60	5.18	16.2	91.8	485
10	18.60	5.21	16.2	91.3	472
11	18.20	5.14	16.2	91.8	476
12	18.40	5.18	16.3	91.2	491
13	18.30	5.15	16.1	91.5	458
14	18.20	5.13	16.3	91.6	456
15	18.50	5.14	16.1	91.4	469
16	18.20	5.19	16.3	91.4	485
17	18.40	5.16	16.1	91.3	465
18	18.10	5.24	16.0	91.5	483
19	18.10	5.16	16.3	90.9	471
20	17.90	5.21	16.0	91.6	481
MEDIA	18.25	5.17	16.18	91.50	474.05
DE	0.18	0.03	0.09	0.24	12.90
CV	1.00	0.62	0.56	0.27	2.72

Tabla 32. Precisión control bajo equipo 3431.

Muestra	WBC	RBC	HGB	VCM	PLT
1	4.13	2.92	7.79	80.0	78.5
2	4.18	2.95	7.78	80.3	78.0
3	4.14	2.96	7.87	80.1	79.5
4	4.13	2.94	7.82	80.4	78.3
5	4.03	2.94	7.84	80.6	79.9
6	4.17	2.95	7.87	80.6	77.7
7	4.08	2.95	7.91	80.5	79.8
8	4.16	2.97	7.97	80.6	82.9
9	4.22	2.96	7.96	80.6	80.6
10	4.12	2.96	7.80	80.7	84.9
11	4.08	2.95	7.92	80.4	80.5
12	4.07	2.95	7.89	80.5	84.5
13	4.26	2.97	7.79	80.4	79.9
14	4.14	2.93	7.90	80.1	79.6
15	4.16	2.96	7.96	79.7	82.8
16	4.15	2.96	7.90	80.1	81.0
17	4.23	3.00	7.90	80.3	84.1
18	4.05	2.98	7.89	80.2	77.9
19	4.17	2.99	7.90	80.3	79.5
20	4.20	2.97	7.87	80.4	82.8
MEDIA	4.14	2.96	7.88	80.34	80.64
DE	0.06	0.02	0.06	0.25	2.27
CV	1.46	0.65	0.73	0.31	2.82



Equipo 3432.

Tabla 33. Precisión control alto equipo 3432.

Muestra	WBC	RBC	HGB	VCM	PLT
1	16.60	5.21	16.3	93.0	564
2	15.60	5.10	16.3	92.4	553
3	16.20	5.17	16.1	92.9	559
4	16.20	5.17	16.2	92.8	567
5	16.60	5.20	16.4	92.6	579
6	16.40	5.07	16.3	93	562
7	16.60	5.13	16.0	93.4	565
8	15.90	5.10	15.9	93.0	566
9	16.20	5.11	16.2	93.2	556
10	16.60	5.13	16.4	92.9	582
11	16.20	5.09	16.3	93.2	553
12	16.10	5.21	16.4	93.7	561
13	16.30	5.13	16.3	93.2	556
14	16.10	5.21	16.5	92.9	572
15	16.50	5.19	16.4	93.1	559
16	16.60	5.15	16.2	92.9	557
17	16.40	5.24	16.2	93.1	545
18	16.80	5.19	16.3	92.6	554
19	16.70	5.21	16.4	92.4	576
20	17.10	5.20	16.3	92.0	561
MEDIA	16.39	5.16	16.27	92.92	562.35
DE	0.34	0.05	0.15	0.38	9.37
CV	2.07	0.96	0.89	0.41	1.67

Tabla 34. Precisión control bajo equipo 3432.

Muestra	WBC	RBC	HGB	VCM	PLT
1	4.20	2.92	7.89	80.0	88.3
2	4.23	2.96	7.95	79.8	92.2
3	4.09	2.96	8.06	79.0	85.8
4	4.22	2.97	7.94	78.6	91.9
5	4.33	2.95	7.99	80.0	88.5
6	4.30	2.97	8.05	79.9	88.4
7	4.24	2.95	7.91	79.8	83.6
8	4.25	2.94	7.95	79.3	87.9
9	4.10	2.98	8.12	78.9	83.1
10	4.33	2.94	7.89	79.8	89.6
11	4.17	2.99	8.06	79.3	84.0
12	4.16	2.93	7.87	80.1	86.8
13	4.06	3.03	8.09	79.0	87.8
14	4.30	2.95	7.92	79.4	87.9
15	4.29	2.99	8.03	79.5	89.4
16	4.18	3.03	8.10	79.2	84.5
17	4.23	2.93	7.90	79.7	89.4
18	4.20	2.96	7.94	79.7	89.5
19	4.20	2.93	7.97	78.5	90.1
20	4.22	3.03	8.08	79.4	87.6
MEDIA	4.22	2.97	7.99	79.45	87.82
DE	0.08	0.03	0.08	0.47	2.55
CV	1.79	1.14	1.01	0.59	2.91



ARRASTRE O ACARREO

Equipo3410.

Tabla 35. Resultados obtenidos de la secuencia de arrastre equipo 3410.

	L1	L2	L3	H1	H2	L4	H3	H4	L5	L6	L7
WBC	4.18	4.14	4.05	16.40	17.00	4.28	16.40	16.50	4.24	4.14	4.18
RBC	2.97	2.96	2.96	5.24	5.30	2.99	5.34	5.19	2.97	3.01	3.00
HGB	7.87	7.86	7.91	17.00	16.90	7.99	17.10	16.90	7.90	8.01	7.95
VCM	79.7	79.9	79.7	92.3	92.4	80.3	92.8	91.8	80.6	80.1	80.2
PLT	84.8	71.7	73.6	502	494	69.8	500	497	72.5	70	67.7
	L8	H5	H6	L9	H7	H8	L10	H9	H10	L11	
WBC	4.15	17.00	16.60	4.19	16.80	16.70	3.78	17.00	17.00	4.25	
RBC	3.02	5.19	5.27	2.98	5.23	5.30	2.98	5.29	5.27	2.99	
HGB	8.03	17.00	16.80	7.92	17.1	17.00	7.90	17.30	17.10	7.95	
VCM	80.2	92.9	92.6	80.1	93.1	92.6	80.3	92.1	92.6	80.3	
PLT	74.8	481	489	74.4	483	508	78.5	507	500	74.8	

Tabla 36. Promedio “bajo-bajo” equipo 3410.

	L2	L3	L6	L7	L8	MEDIA
WBC	4.14	4.05	4.14	4.18	4.15	4.131769
RBC	2.96	2.96	3.01	3.00	3.02	2.989893
HGB	7.86	7.91	8.01	7.95	8.03	7.951752
VCM	79.9	79.7	80.1	80.2	80.2	80.01976
PLT	71.7	73.6	70.0	67.7	74.8	71.51499

Tabla 37. Promedio “alto-bajo” equipo 3410.

	L4	L5	L9	L10	MEDIA
WBC	4.28	4.24	4.19	3.78	4.117455
RBC	2.99	2.97	2.98	2.98	2.979992
HGB	7.99	7.90	7.92	7.90	7.927414
VCM	80.3	80.6	80.1	80.3	80.3248
PLT	69.8	72.5	74.4	78.5	73.73251

Tabla 38. Diferencia de medias equipo 3410.

	A-B	B-B	DIF
WBC	4.1175	4.1318	0.0143
RBC	2.9800	2.9899	0.0099
HGB	7.9274	7.9518	0.0244
VCM	80.325	80.020	0.305
PLT	73.730	71.515	2.215



Equipo3411.

Tabla 39. Resultados obtenidos de la secuencia de arrastre equipo 3411.

	L1	L2	L3	H1	H2	L4	H3	H4	L5	L6	L7
WBC	4.06	4.02	4.05	16.40	16.70	4.03	16.70	17.30	4.05	4.08	4.03
RBC	3.00	2.99	3.00	5.19	5.18	2.96	5.21	5.15	2.97	2.94	2.95
HGB	7.76	7.75	7.85	16.90	16.90	7.88	16.70	16.90	7.82	7.85	7.84
VCM	79.9	79.7	79.8	92.3	92.3	80.0	92.5	92.5	79.8	80.0	80.0
PLT	83.6	83.0	80.7	565	563	86.7	585	565	87.7	83.1	82.7
	L8	H5	H6	L9	H7	H8	L10	H9	H10	L11	
WBC	4.04	16.80	16.60	4.03	17.40	17.00	4.07	16.50	16.50	4.06	
RBC	2.93	5.22	5.22	2.95	5.25	5.20	2.99	5.34	5.19	3.01	
HGB	7.83	17.00	17.00	7.79	17.00	16.80	7.96	17.30	16.80	7.90	
VCM	80.0	93.1	92.5	80.1	92.0	92.3	80.1	92.1	92.1	80.0	
PLT	83.5	585	573	88.3	566	573	81.7	556	574	84.5	

Tabla 40. Promedio “bajo-bajo” equipo 3411.

	L2	L3	L6	L7	L8	MEDIA
WBC	4.02	4.05	4.08	4.03	4.04	4.043948
RBC	2.99	3.00	2.94	2.95	2.93	2.961869
HGB	7.75	7.85	7.85	7.84	7.83	7.823909
VCM	79.7	79.8	80.0	80.0	80.0	79.8999
PLT	83.0	80.7	83.1	82.7	83.5	82.59408

Tabla 41. Promedio “alto-bajo” equipo 3411.

	L4	L5	L9	L10	MEDIA
WBC	4.03	4.05	4.03	4.07	4.044966
RBC	2.96	2.97	2.95	2.99	2.967463
Hb	7.88	7.82	7.79	7.96	7.862232
VCM	80.0	79.8	80.1	80.1	79.99991
PLT	86.7	87.7	88.3	81.7	86.05981

Tabla 42. Diferencia de medias equipo 3411.

	A-B	B-B	DIF
WBC	4.0450	4.0439	0.0011
RBC	2.9675	2.9619	0.0056
HGB	7.8622	7.8239	0.0383
VCM	80.0	79.9	0.1
PLT	86.060	82.594	3.466



Equipo3431.

Tabla 43. Resultados obtenidos de la secuencia de arrastre equipo 3431.

	L1	L2	L3	H1	H2	L4	H3	H4	L5	L6	L7
WBC	4.39	4.13	4.14	16.7	16.9	4.28	16.90	16.80	4.27	4.07	4.18
RBC	3.01	2.95	2.95	5.30	5.30	2.95	5.27	5.39	2.97	2.97	2.94
HGB	7.84	7.81	7.81	16.80	17.00	7.82	17.00	16.80	7.91	7.89	7.90
VCM	79.3	79.2	79.6	91.4	92.0	79.9	92.5	92.6	79.9	79.5	79.6
PLT	83.9	86.9	84.1	542	557	84.9	558	564	88.6	86.4	82.5
	L8	H5	H6	L9	H7	H8	L10	H9	H10	L11	
WBC	4.15	16.80	16.80	4.23	17.40	17.00	4.19	17.30	17.10	4.23	
RBC	2.96	5.26	5.31	2.96	5.27	5.37	2.92	5.32	5.32	2.97	
HGB	7.91	16.90	16.90	7.87	17.00	16.80	7.76	17.10	17.00	7.95	
VCM	79.9	92.1	92.0	80.0	92.1	91.7	79.6	92.0	92.6	80.2	
PLT	79.7	55.7	564	82.7	593	565	81.1	550	561	81.7	

Tabla 44. Promedio “bajo-bajo” equipo 3431.

	L2	L3	L6	L7	L8	MEDIA
WBC	4.13	4.14	4.07	4.18	4.15	4.133842
RBC	2.95	2.95	2.97	2.94	2.96	2.953982
HGB	7.81	7.81	7.89	7.90	7.91	7.863874
VCM	79.2	79.6	79.5	79.6	79.9	79.55968
PLT	86.9	84.1	86.4	82.5	79.7	83.87806

Tabla 45. Promedio “alto-bajo” equipo 3431.

	L4	L5	L9	L10	MEDIA
WBC	4.28	4.27	4.23	4.19	4.24235
RBC	2.95	2.97	2.96	2.92	2.949941
HGB	7.82	7.91	7.87	7.76	7.839799
VCM	79.9	79.9	80.0	79.6	79.84986
PLT	84.9	88.6	82.7	81.1	84.27853

Tabla 46. Diferencia de medias equipo 3431.

	A-B	B-B	DIF
WBC	4.2424	4.1338	0.1086
RBC	2.949	2.954	0.005
HGB	7.8390	7.8639	0.0249
VCM	79.85	79.56	0.29
PLT	84.279	83.878	0.401



Equipo 3432.

Tabla 47. Resultados obtenidos de la secuencia de arrastre equipo 3432.

	L1	L2	L3	H1	H2	L4	H3	H4	L5	L6	L7
WBC	4.32	4.26	4.16	17.70	17.10	4.40	17.00	18.40	4.54	4.21	4.22
RBC	3.03	2.97	2.99	5.35	5.31	3.00	5.28	5.37	2.97	2.93	3.02
HGB	7.98	8.00	8.03	17.10	17.20	8.08	17.00	17.20	7.92	8.00	8.09
VCM	79.1	78.7	78.6	90.9	90.9	78.9	92.1	91.2	79.4	78.7	78.9
PLT	91.9	83.5	90.0	584	574	87.2	555	560	91.5	96.3	86.3
	L8	H5	H6	L9	H7	H8	L10	H9	H10	L11	
WBC	4.37	17.30	17.20	4.47	17.10	17.40	3.82	17.30	17.50	4.43	
RBC	2.99	5.25	5.22	3.00	5.41	5.31	2.97	5.23	5.32	2.99	
HGB	8.02	17.00	17.20	7.96	17.40	17.20	7.96	17.20	17.40	7.97	
VCM	78.9	90.5	90.8	79.3	91.3	91.1	79.0	91.9	90.6	78.4	
PLT	86.1	557	560	87.8	576	571	83.2	561	570	89.8	

Tabla 48. Promedio “bajo-bajo” equipo 3432.

	L2	L3	L6	L7	L8	MEDIA
WBC	4.26	4.16	4.21	4.22	4.37	4.243418
RBC	2.97	2.99	2.93	3.02	2.99	2.979852
HGB	8.00	8.03	8.00	8.09	8.02	8.027932
VCM	78.7	78.6	78.7	78.9	78.9	78.75991
PLT	83.5	90.0	96.3	86.3	86.1	88.33114

Tabla 49. Promedio “alto-bajo” equipo 3432.

	L4	L5	L9	L10	MEDIA
WBC	4.40	4.54	4.47	3.82	4.297539
RBC	3.00	2.97	3.00	2.97	2.984962
HGB	8.08	7.92	7.96	7.96	7.979775
VCM	78.9	79.4	79.3	79.0	79.14973
PLT	87.2	91.5	87.8	83.2	87.37534

Tabla 50. Diferencia de medias equipo 3432.

	A-B	B-B	DIF
WBC	4.2975	4.2434	0.0541
RBC	2.9850	2.9799	0.0051
HGB	7.9798	8.0279	0.0481
VCM	79.15	78.76	0.39
PLT	87.375	88.331	0.956



VERACIDAD POR ERROR RELATIVO Y PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN

Tabla 51. Rangos del control normal para la veracidad.

PARAMETRO	C. NORMAL
WBC	7.1+/-0.7
RBC	4.19+/-0.20
Hb	12.3+/-0.6
MCV	87.6+/-4.0
PLQ	234+/-30

Equipo 3410.

Tabla 52. Veracidad por error relativo y porcentaje de recuperación equipo 3410.

MUESTRA	WBC	RBC	HGB	MCV	PLQ
1	7.00	4.28	12.4	87.4	218
2	6.75	4.28	12.3	87.5	213
3	6.67	4.24	12.3	87.4	204
4	7.00	4.25	12.4	87.7	212
5	7.01	4.22	12.4	87.6	202
6	6.98	4.20	12.4	87.9	212
7	6.62	4.21	12.3	87.7	212
8	6.88	4.22	12.4	87.8	207
9	7.09	4.15	12.4	88.2	207
10	6.99	4.20	12.4	87.7	209
11	6.86	4.26	12.4	88.3	204
12	6.86	4.32	12.6	88.2	214
13	7.14	4.26	12.4	88.3	202
14	7.02	4.23	12.4	87.7	225
15	7.12	4.25	12.5	87.8	215
16	7.20	4.21	12.5	88.1	210
17	7.07	4.26	12.4	88.2	204
18	7.20	4.30	12.4	88.1	215
19	7.23	4.18	12.5	88.1	210
20	6.86	4.23	12.5	87.8	208
VALOR REAL	7.10	4.19	12.3	87.6	234
MEDIA	6.98	4.24	12.42	87.88	210.15
% DE ERROR RELATIVO	1.73	-1.13	-0.93	-0.31	10.19
%RECUPERACIÓN	98.27	101.13	100.93	100.31	90.27



Equipo 3411.

Tabla 53. Veracidad por error relativo y porcentaje de recuperación equipo 3411.

MUESTRA	WBC	RBC	HGB	MCV	PLQ
1	7.04	4.27	12.0	87.0	246
2	6.76	4.23	12.2	87.1	249
3	7.00	4.13	12.2	87.6	255
4	7.10	4.20	12.3	87.5	250
5	6.86	4.30	12.4	87.7	242
6	6.88	4.26	12.3	87.7	264
7	7.03	4.26	12.3	87.8	247
8	6.94	4.26	12.3	88.1	249
9	6.89	4.26	12.4	87.7	256
10	6.84	4.21	12.4	88.0	239
11	7.01	4.26	12.5	88.1	243
12	6.99	4.22	12.4	87.8	257
13	6.96	4.24	12.3	87.9	261
14	6.85	4.30	12.4	87.8	254
15	7.09	4.22	12.4	88.0	249
16	7.09	4.19	12.4	87.9	258
17	6.96	4.27	12.5	87.5	246
18	7.11	4.28	12.6	88.0	255
19	7.03	4.31	12.6	88.2	238
20	7.06	4.26	12.3	88.0	246
VALOR REAL	7.1	4.19	12.3	87.6	234
MEDIA	6.97	4.25	12.36	87.77	250.20
% DE ERROR RELATIVO	1.77	-1.35	-0.49	-0.19	-6.92
%RECUPERACIÓN	98.23	101.35	100.49	100.19	106.92



Equipo 3431.

Tabla 54. Veracidad por error relativo y porcentaje de recuperación equipo 3431.

MUESTRA	WBC	RBC	HGB	MCV	PLQ
1	7.60	4.44	12.6	86.9	258
2	7.23	4.36	12.6	87.0	249
3	7.32	4.31	12.7	87.0	248
4	7.24	4.32	12.6	87.3	238
5	7.21	4.31	12.6	87.4	249
6	7.17	4.26	12.6	87.7	244
7	7.07	4.31	12.7	88.1	247
8	7.22	4.33	12.6	87.7	243
9	7.18	4.25	12.6	87.7	242
10	7.11	4.27	12.6	87.6	239
11	7.33	4.27	12.5	87.4	247
12	7.23	4.25	12.6	87.4	233
13	7.13	4.31	12.6	87.7	244
14	7.14	4.35	12.7	87.6	241
15	7.26	4.35	12.6	87.9	252
16	7.29	4.33	12.6	87.8	232
17	7.23	4.26	12.5	87.4	239
18	7.14	4.33	12.6	87.5	243
19	7.18	4.26	12.6	87.6	245
20	7.18	4.33	12.7	87.5	243
VALOR REAL	7.10	4.19	12.3	87.6	234
MEDIA	7.22	4.31	12.61	87.51	243.80
% DE ERROR RELATIVO	-1.73	-2.86	-2.52	0.10	-4.19
%RECUPERACIÓN	101.73	102.86	102.52	99.90	104.19



Equipo 3432.

Tabla 55. Veracidad por error relativo y porcentaje de recuperación equipo 3432.

MUESTRA	WBC	RBC	HGB	MCV	PLQ
1	7.51	4.33	12.7	87.0	249
2	7.63	4.31	12.7	86.5	251
3	7.48	4.25	12.8	86.6	236
4	7.39	4.33	12.7	86.8	240
5	7.37	4.38	12.6	86.7	250
6	7.32	4.25	12.8	86.8	249
7	7.51	4.33	12.8	86.6	252
8	7.41	4.31	12.7	86.9	233
9	7.37	4.32	12.7	86.9	247
10	7.59	4.35	12.7	86.9	246
11	7.68	4.22	12.8	86.8	245
12	7.38	4.35	12.9	86.6	239
13	7.55	4.38	12.9	86.4	245
14	7.42	4.33	12.9	86.4	240
15	7.49	4.30	12.9	86.5	246
16	7.22	4.35	12.9	86.8	247
17	7.38	4.36	12.9	86.4	250
18	7.18	4.40	12.6	86.5	255
19	7.00	4.34	12.8	86.3	248
20	7.18	4.29	13.0	86.7	225
VALOR REAL	7.10	4.19	12.3	87.6	234
MEDIA	7.40	4.32	12.79	86.66	244.65
% DE ERROR RELATIVO	-4.27	-3.20	-3.98	1.08	-4.55
%RECUPERACIÓN	104.27	103.20	103.98	98.92	104.55



VERACIDAD POR COMPARCIÓN DE MÉTODOS.

Tabla 56. Delta de los resultados obtenidos por comparación de métodos para leucocitos.

ORDEN	CELLDYN 3700	ADVIA 120	DELTA
21764072	5.52	5.25	0.27
21764673	3.49	3.54	-0.05
50356845	6.97	7.58	-0.61
21765035	5.59	5.63	-0.04
50359569	5.80	5.92	-0.12
50359460	8.13	7.99	0.14
50356296	6.10	6.42	-0.32
50353789	6.92	7.07	-0.15
50358124	5.39	5.24	0.15
50356221	6.06	6.12	-0.06
50356542	6.71	6.69	0.02
50357938	6.60	7.00	-0.40
50356849	5.08	5.04	0.04
50360342	4.77	4.76	0.01
21766422	6.29	6.63	-0.34
50359157	5.60	5.56	0.04
50357984	6.57	6.53	0.04
21765853	7.15	7.73	-0.58
21763570	6.06	6.36	-0.30
21763357	6.49	6.68	-0.19
21765552	7.91	7.74	0.17
21766292	8.81	8.81	0.00
21764466	6.08	5.82	0.26
21762036	4.20	4.16	0.04
50355258	5.44	5.52	-0.08
21762208	6.76	7.02	-0.26
50354604	7.17	7.89	-0.72
21761459	5.19	5.31	-0.12
21761435	6.18	6.21	-0.03
50327785	5.40	5.80	-0.40
Promedio	6.15	6.27	-0.12
DE			0.25
2 DE			0.50
Prom-2DE			-0.62
Prom+2DE			0.38
3DE			0.75
Prom-3DE			-0.87
Prom+3DE			0.63



Grafico 6. Concordancia de leucocitos por comparación de métodos.

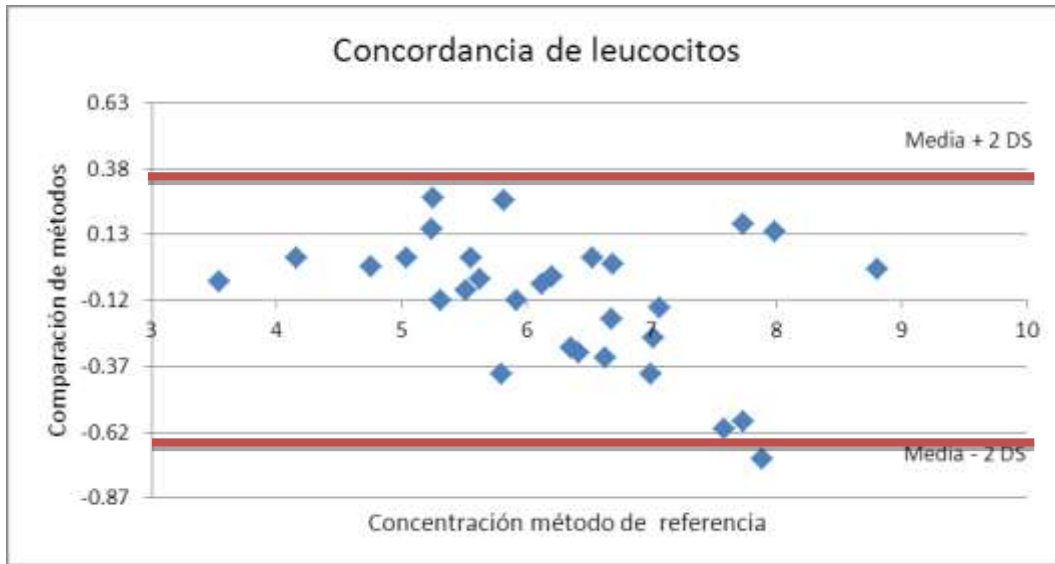


Grafico 7. Correlación de leucocitos por comparación de método.

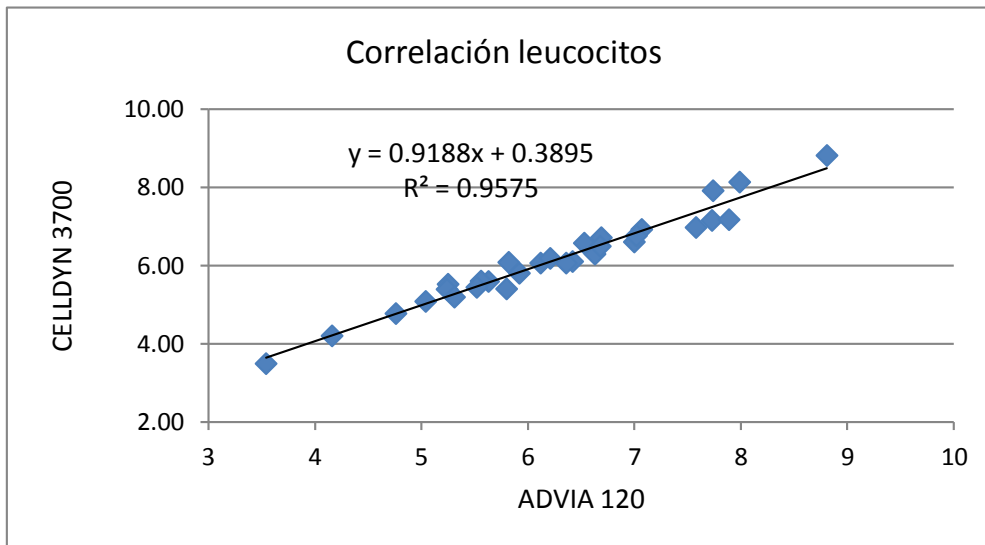




Tabla 57. Delta de los resultados obtenidos por comparación de método para eritrocitos.

ORDEN	CELLDYN 3700	ADVIA 120	DELTA
21764072	5.39	5.38	0.01
21764673	4.89	4.95	-0.06
50356845	4.87	5.05	-0.18
21765035	4.74	4.84	-0.10
50359569	4.91	4.89	0.02
50359460	5.31	5.57	-0.26
50356296	4.89	5	-0.11
50353789	5.33	5.3	0.03
50358124	5.43	5.49	-0.06
50356221	4.82	4.87	-0.05
50356542	5.61	5.77	-0.16
50357938	5	5.13	-0.13
50356849	4.91	4.87	0.04
50360342	4.36	4.43	-0.07
21766422	5.12	5.25	-0.13
50359157	4.46	4.67	-0.21
50357984	5.07	5.11	-0.04
21765853	5.1	5.22	-0.12
21763570	4.83	4.9	-0.07
21763357	4.69	4.64	0.05
21765552	4.79	4.78	0.01
21766292	4.04	4.22	-0.18
21764466	4.12	4.16	-0.04
21762036	4.67	4.73	-0.06
50355258	4.44	4.46	-0.02
21762208	4.28	4.34	-0.06
50354604	5.68	5.85	-0.17
21761459	5.26	5.44	-0.18
21761435	4.53	4.71	-0.18
50327785	4.33	4.32	0.01
Promedio	4.87	4.94	-0.08
DS			0.08
2DS			0.16
Prom-2DS			-0.24
Prom+2DS			0.08
3DE			0.24
Prom-3DS			-0.32
Prom+3DS			0.16



Grafico 8. Concordancia de eritrocitos por comparación de métodos.

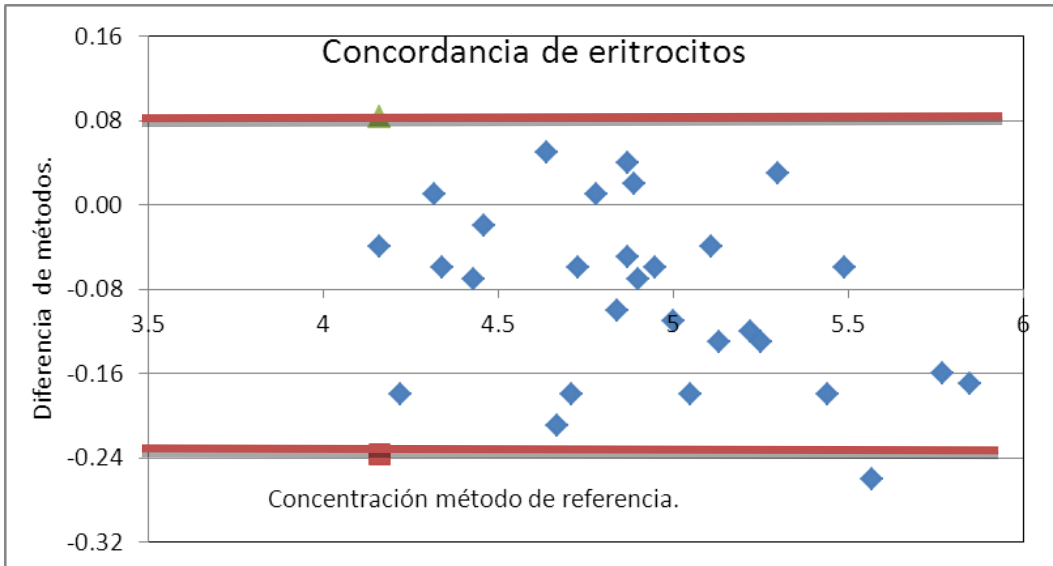


Grafico 9. Correlación de eritrocitos por comparación de método.

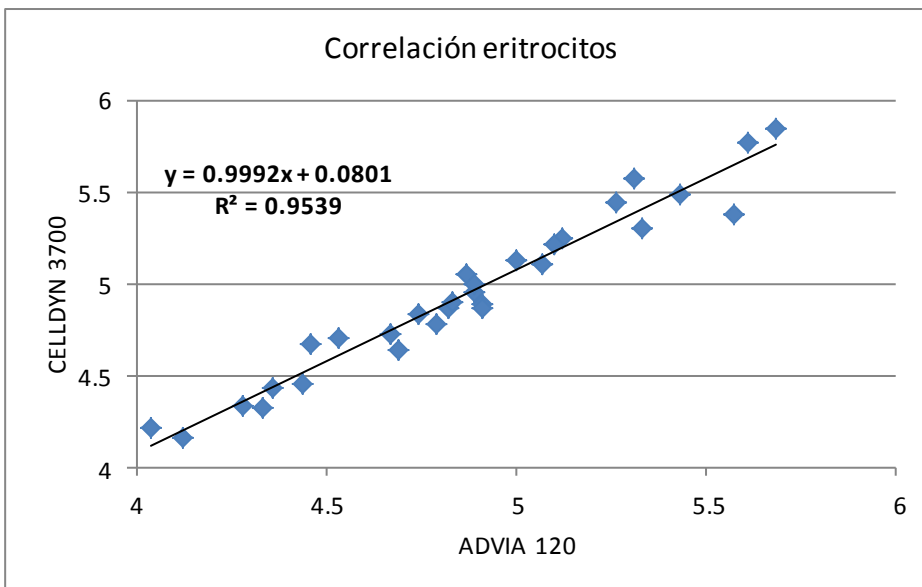




Tabla 58. Delta de los resultados obtenidos por comparación de método para hemoglobina.

ORDEN	CELLDYN 3700	ADVIA 120	DELTA mg/dL
21764072	16.5	16.4	0.10
21764673	14.6	14.7	-0.10
50356845	15.3	15.5	-0.20
21765035	14	14.3	-0.30
50359569	15.7	15.6	0.10
50359460	15.9	16.7	-0.80
50356296	14.9	15.2	-0.30
50353789	15	15.1	-0.10
50358124	16	16.1	-0.10
50356221	15	15.2	-0.20
50356542	17.6	17.6	0.00
50357938	15.3	15.8	-0.50
50356849	14.1	14.2	-0.10
50360342	12.3	12.4	-0.10
21766422	17.1	17.5	-0.40
50359157	13.3	13.8	-0.50
50357984	15.7	15.7	0.00
21765853	15.6	15.8	-0.20
21763570	14.7	14.9	-0.20
21763357	14.4	14.4	0.00
21765552	13.9	13.8	0.10
21766292	11.8	11.8	0.00
21764466	12.5	12.7	-0.20
21762036	14.3	14.2	0.10
50355258	14.9	14.7	0.20
21762208	13.9	13.8	0.10
50354604	13.9	13.9	0.00
21761459	16.8	17.1	-0.30
21761435	15.8	16.2	-0.40
50327785	14.7	14.7	0.00
Promedio	14.85	14.99	-0.14
DS			0.22
2DS			0.45
Prom-2DS			-0.59
Prom+2DS			0.30
3DE			0.84
Prom-3DS			-0.80
Prom+3DS			0.52



Grafico 10. Concordancia de hemoglobina por comparación de métodos.

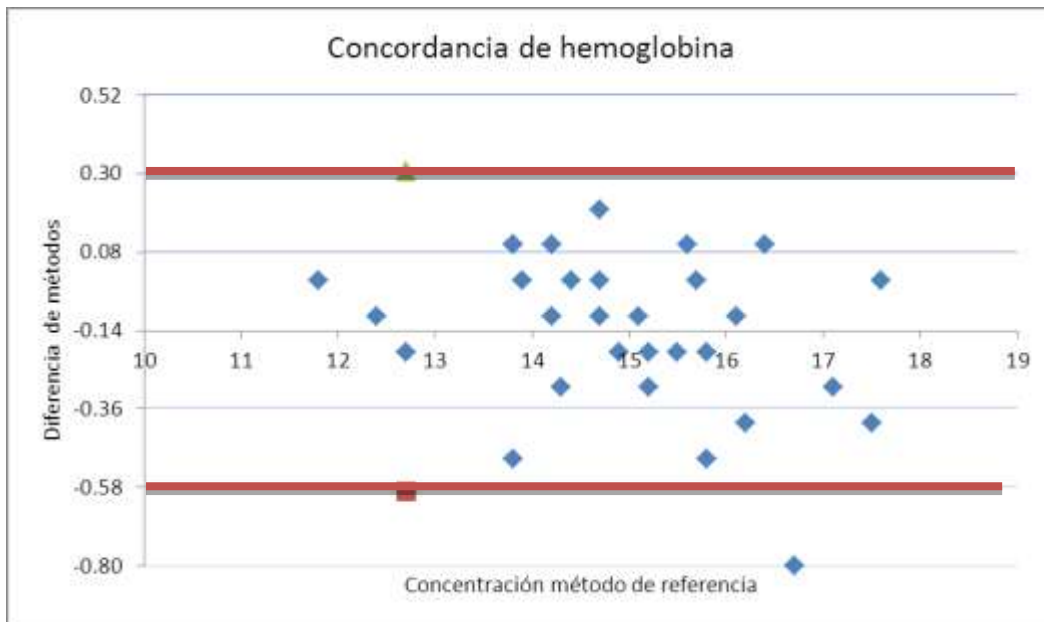


Grafico 11. Correlación de hemoglobina por comparación de método.

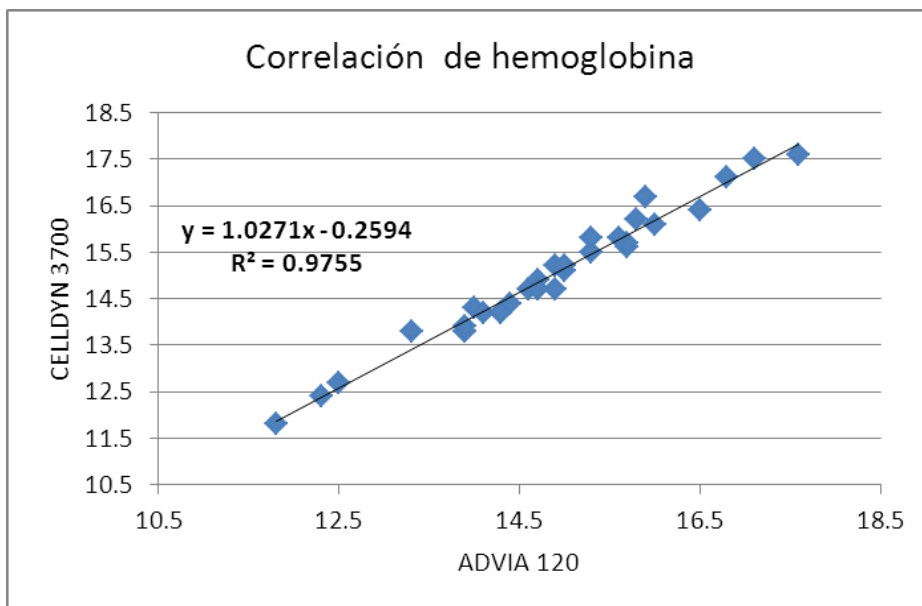




Tabla 59. Delta de los resultados obtenidos por comparación de método para VCM.

ORDEN	CELLDYN 3700	ADVIA 120	DELTA U/L
21764072	89.7	93.1	-3.40
21764673	89.8	91.9	-2.10
50356845	93.6	96.9	-3.30
21765035	91.4	93.5	-2.10
50359569	95.6	99.6	-4.00
50359460	87.5	92.7	-5.20
50356296	92.4	95.1	-2.70
50353789	88	91.7	-3.70
50358124	89.4	90.9	-1.50
50356221	96.6	98.6	-2.00
50356542	91.2	93.8	-2.60
50357938	90.4	93	-2.60
50356849	90.6	93.2	-2.60
50360342	85	88.1	-3.10
21766422	97.7	100.9	-3.20
50359157	88.2	91	-2.80
50357984	93.2	95.8	-2.60
21765853	91	93.5	-2.50
21763570	92.3	95.3	-3.00
21763357	93.6	96.6	-3.00
21765552	88	90.8	-2.80
21766292	89.4	91.7	-2.30
21764466	91.9	94.6	-2.70
21762036	91.7	93.6	-1.90
50355258	98.8	101.5	-2.70
21762208	99.3	102.8	-3.50
50354604	74.4	79.2	-4.80
21761459	95.7	98.3	-2.60
21761435	103	108.2	-5.20
50327785	101	105.1	-4.10
Promedio	92.01	95.03	-3.02
DE			0.91
2 DE			1.82
Prom-2DE			-4.84
Prom+2DE			-1.20
3DE			2.74
Prom-3DE			-5.76
Prom+3DE			-0.28



Tabla 60. Delta de los resultados obtenidos por comparación de método para plaquetas.

ORDEN	CELLDYN 3700	ADVIA 120	DELTA mg/dL
21764072	230	227	3.00
21764673	254	271	-17.00
50356845	298	305	-7.00
21765035	248	273	-25.00
50359569	282	300	-18.00
50359460	281	302	-21.00
50356296	370	397	-27.00
50353789	217	237	-20.00
50358124	208	210	-2.00
50356221	352	332	20.00
50356542	292	314	-22.00
50357938	226	231	-5.00
50356849	316	345	-29.00
50360342	250	266	-16.00
21766422	241	258	-17.00
50359157	332	353	-21.00
50357984	228	238	-10.00
21765853	317	345	-28.00
21763570	293	272	21.00
21763357	323	345	-22.00
21765552	241	244	-3.00
21766292	274	287	-13.00
21764466	289	320	-31.00
21762036	336	342	-6.00
50355258	293	318	-25.00
21762208	285	306	-21.00
50354604	325	319	6.00
21761459	259	268	-9.00
21761435	246	269	-23.00
50327785	263	307	-44.00
Promedio	278.97	293.37	-14.40
DE			14.40
2 DE			28.81
Prom-2DE			-43.21
Prom+2DE			14.41
3DE			43.21
Prom-3DE			-57.61
Prom+3DE			28.81



Grafico 14. Concordancia de plaquetas por comparación de métodos.

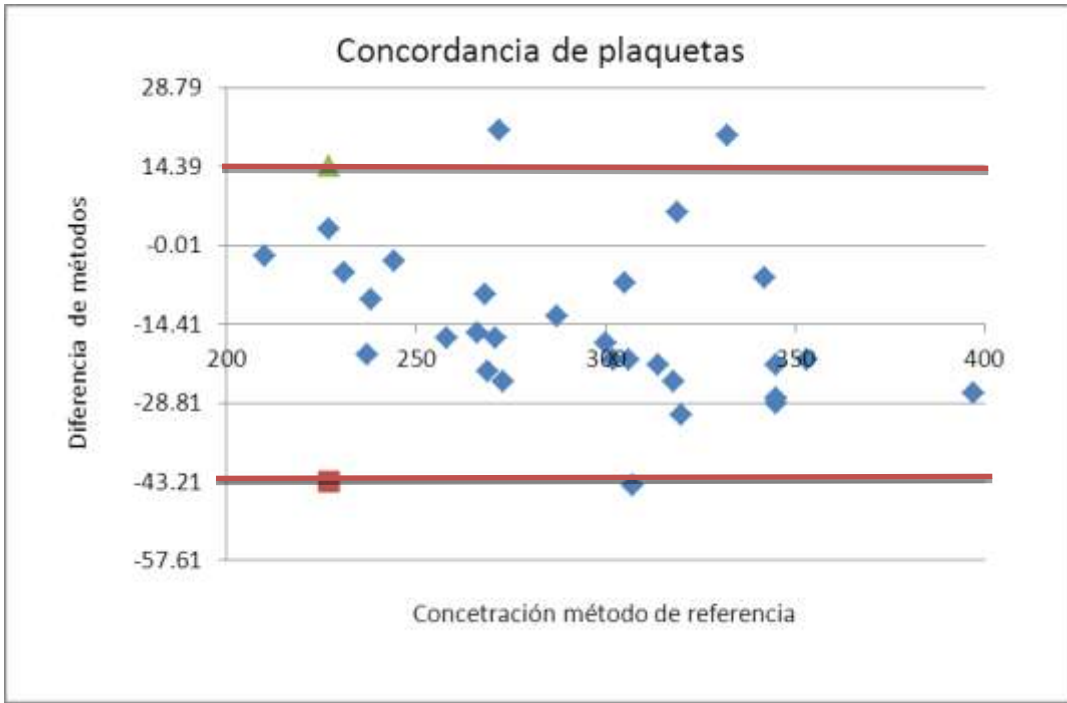
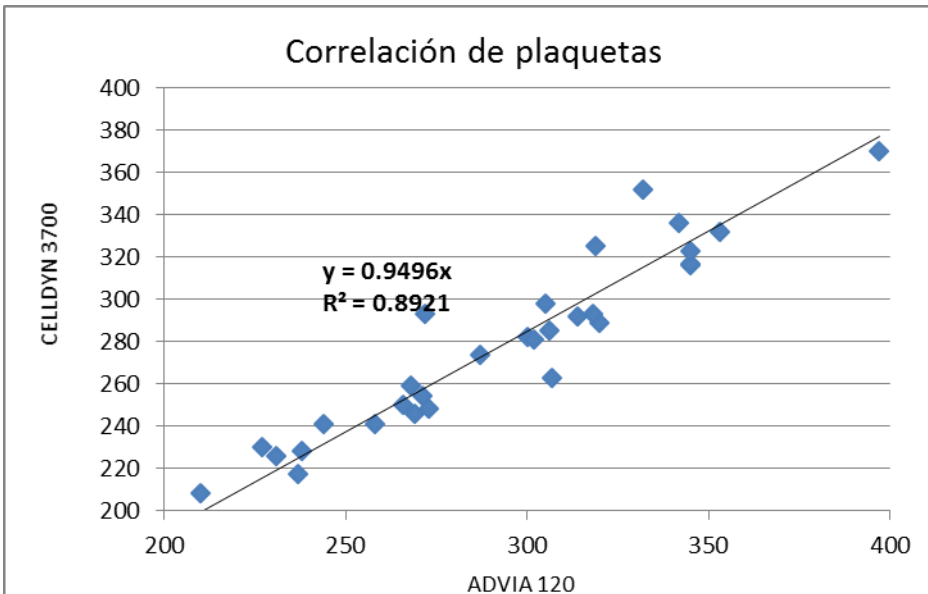


Grafico 15. Correlación de plaquetas por comparación de método.





CORRELACIÓN

Tabla 61. Resultados obtenidos para WBC en los cinco sistemas automatizados.

MUESTRA		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ADVIA 3354	WBC	5.25	3.54	7.58	5.63	5.92	7.99	6.42	7.07	5.24	6.12
CELLDYN 3410	WBC	5.52	3.49	6.97	5.59	5.8	8.13	6.1	6.92	5.39	6.06
CELL-DYN 3432	WBC	5.04	3.72	7.01	5.22	5.75	8.73	5.98	6.77	5.29	5.97
CELL-DYN 3431	WBC	5.46	3.48	6.99	5.42	5.96	8.21	6.22	6.86	5.01	6.02
CELL-DYN 3411	WBC	5.23	3.46	6.83	5.3	5.55	8.17	5.75	6.42	4.99	5.8
MUESTRA		11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
ADVIA 3355	WBC	6.69	7	5.04	4.76	6.63	5.56	6.53	7.73	6.36	6.68
CELLDYN 3411	WBC	6.71	6.6	5.08	4.77	6.29	5.6	6.57	7.15	6.06	6.49
CELL-DYN 3432	WBC	6.9	6.61	4.78	4.52	6.55	5.57	6.46	7.09	6.33	6.42
CELL-DYN 3431	WBC	6.73	6.3	4.9	4.59	6.64	5.57	6.27	7.06	6.07	6.43
CELL-DYN 3411	WBC	6.76	6.37	4.59	4.4	6.32	5.4	6.32	7.11	5.86	6.17
MUESTRA		21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ADVIA 3356	WBC	7.74	8.81	5.82	4.16	5.52	7.02	7.89	5.31	6.21	5.8
CELLDYN 3412	WBC	7.91	8.81	6.08	4.2	5.44	6.76	7.17	5.19	6.18	5.4
CELL-DYN 3432	WBC	7.21	9.08	5.88	4.14	5.08	6.49	7.09	5.1	5.94	5.53
CELL-DYN 3431	WBC	7.41	9.14	6.02	4.29	5.29	6.61	7.27	5.3	6.04	5.61
CELL-DYN 3411	WBC	7.53	8.93	5.95	3.88	5.06	6.84	6.95	5.12	5.98	5.47



Grafico 16. Correlación de WBC en los 4 sistemas automatizados CELLDYN 3700.

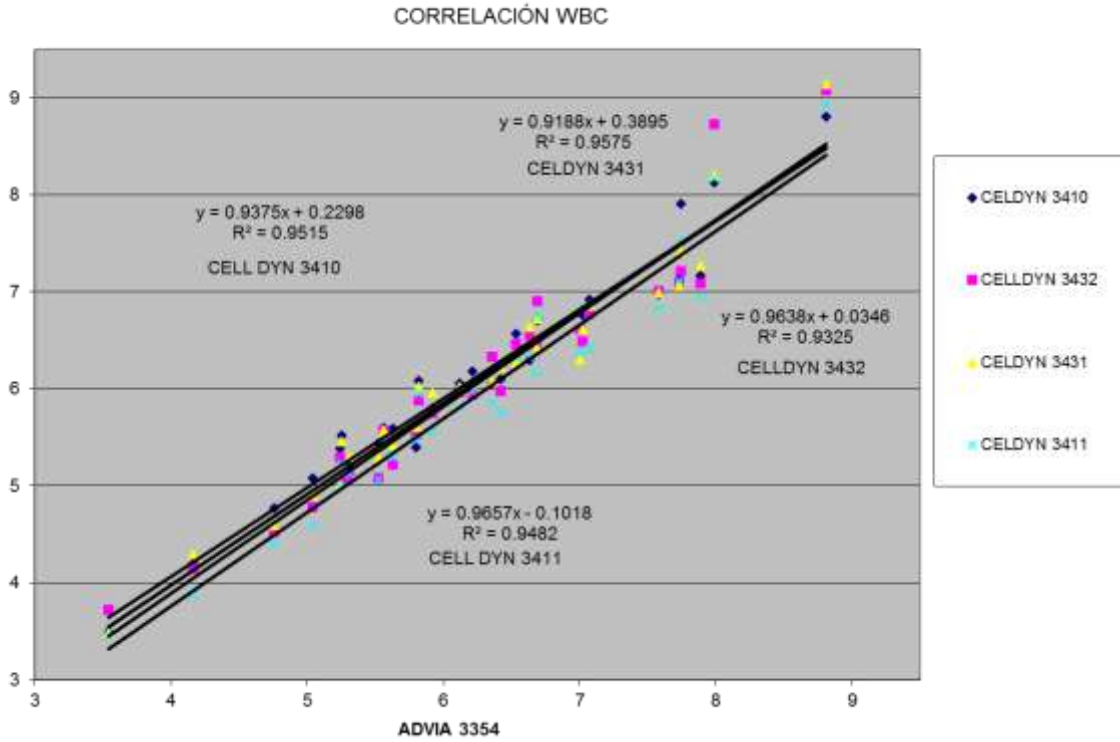




Tabla 62. Resultados obtenidos para RBC en los cinco sistemas automatizados.

MUETRA		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ADVIA 3354	RBC	5.38	4.95	5.05	4.84	4.89	5.57	5	5.3	5.49	4.87
CELLDYN 3410	RBC	5.57	4.89	4.87	4.74	4.91	5.31	4.89	5.33	5.43	4.82
CELL-DYN 3432	RBC	5.21	4.68	4.69	4.57	4.68	5.29	4.76	5.07	5.38	4.57
CELL-DYN 3431	RBC	5.55	4.76	4.79	4.65	4.74	5.17	4.78	5.18	5.31	4.72
CELL-DYN 3411	RBC	5.5	4.77	4.79	4.66	4.71	5.26	4.79	5.17	5.35	4.66
MUETRA		11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
ADVIA 3355	RBC	5.77	5.13	4.87	4.43	5.25	4.67	5.11	5.22	4.9	4.64
CELLDYN 3411	RBC	5.61	5	4.91	4.36	5.12	4.46	5.07	5.1	4.83	4.69
CELL-DYN 3432	RBC	5.64	4.81	4.72	4.25	4.95	4.36	4.88	4.92	4.71	4.44
CELL-DYN 3431	RBC	5.66	4.85	4.81	4.32	5.11	4.39	4.97	5.03	4.71	4.53
CELL-DYN 3411	RBC	5.57	4.79	4.7	4.33	5.12	4.45	4.97	5.1	4.71	4.56
MUETRA		21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ADVIA 3356	RBC	4.78	4.22	4.16	4.73	4.46	4.34	5.85	5.44	4.71	4.32
CELLDYN 3412	RBC	4.79	4.04	4.12	4.67	4.44	4.28	5.68	5.26	4.53	4.33
CELL-DYN 3432	RBC	4.66	3.93	3.98	4.49	4.26	4.12	5.36	5.13	4.48	4.12
CELL-DYN 3431	RBC	4.73	3.95	4.06	4.61	4.39	4.17	5.62	5.17	4.48	4.11
CELL-DYN 3411	RBC	4.76	4.03	4.07	4.66	4.29	4.23	5.59	5.25	4.54	4.2



Grafico 17. Correlación de RBC en los 4 sistemas automatizados CELLDYN 3700.

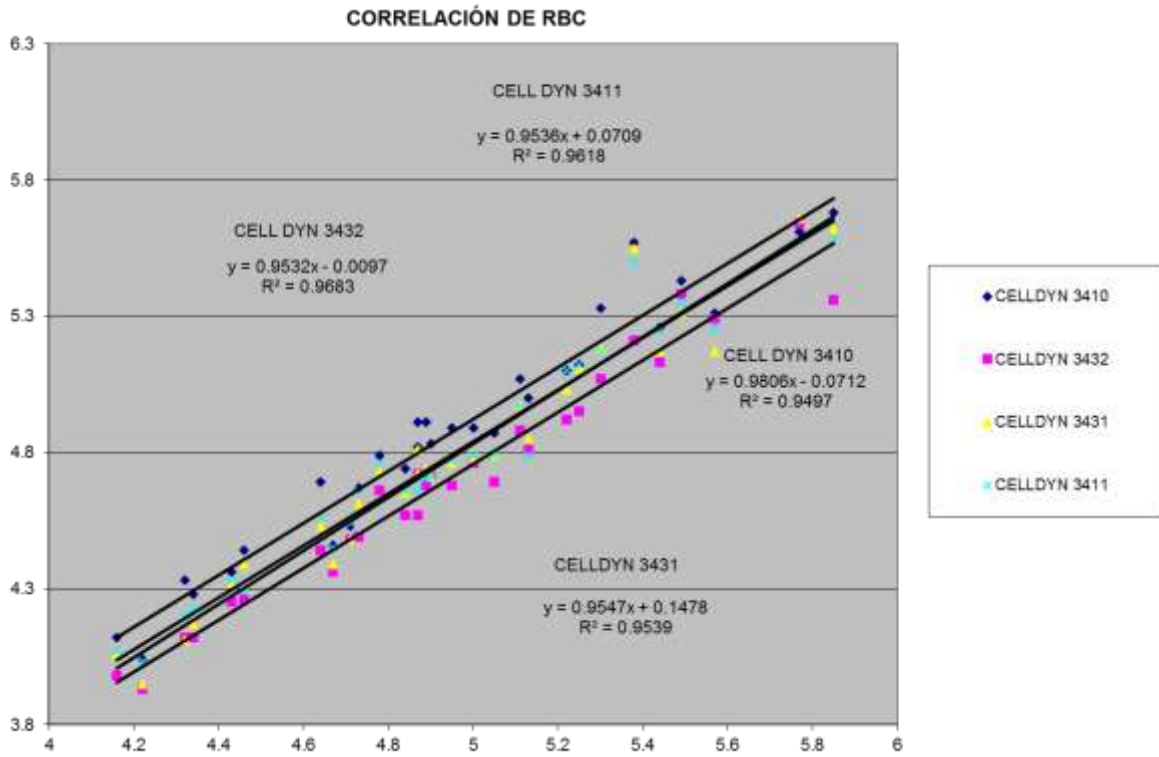




Tabla 63. Resultados obtenidos para HGB en los cinco sistemas automatizados.

MUESTRA		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ADVIA 3354	HGB	16.4	14.7	15.5	14.3	15.6	16.7	15.2	15.1	16.1	15.2
CELLDYN 3410	HGB	16.5	14.6	15.3	14	15.7	15.9	14.9	15	16	15
CELL-DYN 3432	HGB	15.8	14.1	14.7	13.7	15	15.9	14.5	14.4	15.9	14.6
CELL-DYN 3431	HGB	16.3	14.2	14.8	13.6	15.1	15.3	14.4	14.4	15.6	14.4
CELL-DYN 3411	HGB	16.5	14.3	14.8	13.7	15.1	15.6	14.4	14.4	15.7	14.8
MUESTRA		11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
ADVIA 3355	HGB	17.6	15.8	14.2	12.4	17.5	13.8	15.7	15.8	14.9	14.4
CELLDYN 3411	HGB	17.6	15.3	14.1	12.3	17.1	13.3	15.7	15.6	14.7	14.4
CELL-DYN 3432	HGB	17.4	14.9	13.7	12	16.8	13.1	15.3	15.3	14.5	13.9
CELL-DYN 3431	HGB	17.4	14.8	13.7	12.1	16.8	12.9	15	15.2	14.3	13.9
CELL-DYN 3411	HGB	17.2	15	13.7	12.2	17.1	13.2	15.6	15.8	14.4	13.5
MUESTRA		21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ADVIA 3356	HGB	13.8	11.8	12.7	14.2	14.7	13.8	13.9	17.1	16.2	14.7
CELLDYN 3412	HGB	13.9	11.8	12.5	14.3	14.9	13.9	13.9	16.8	15.8	14.7
CELL-DYN 3432	HGB	13.5	11.3	12.1	13.8	14.3	13.5	13.6	16.6	15.5	14.3
CELL-DYN 3431	HGB	13.5	11.3	12.3	14	14.5	13.4	13.4	16.4	15.4	14.1
CELL-DYN 3411	HGB	13.5	11.5	12.4	14.1	14.3	13.8	13.6	17	15.6	14.3



Grafico 18. Correlación de HGB en los 4 sistemas automatizados CELLDYN 3700.

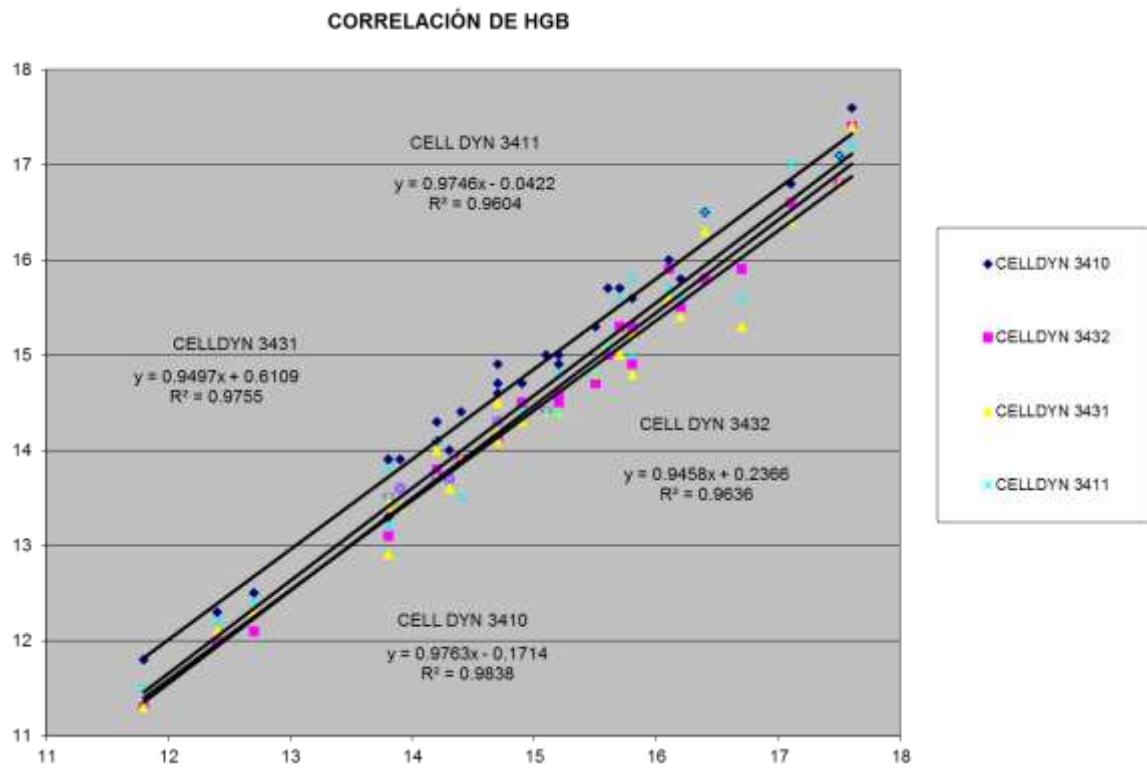




Tabla 64. Resultados obtenidos para VCM en los cinco sistemas automatizados.

MUESTRA		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ADVIA 3354	VCM	93.1	91.9	96.9	93.5	99.6	92.7	95.1	91.7	90.9	98.6
CELLDYN 3410	VCM	89.6	89.8	93	90.4	94.9	87.9	91.3	87	88.9	95.9
CELL-DYN 3432	VCM	88.7	88.6	92.4	90.2	94	86.8	91.1	87.1	87.8	95.2
CELL-DYN 3431	VCM	89.2	89.2	92.3	90.3	93.8	87.6	91.4	86.8	88.5	95.2
CELL-DYN 3411	VCM	89.7	89.8	93.6	91.4	95.6	87.5	92.4	88	89.4	96.6
MUESTRA		11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
ADVIA 3355	VCM	93.8	93	93.2	88.1	100.9	91	95.8	93.5	95.3	96.6
CELLDYN 3411	VCM	89.5	89.7	89.9	84.5	96.8	87.7	92.8	89.8	91.4	92.2
CELL-DYN 3432	VCM	89.6	89.2	88.9	83.6	96.3	86.5	92	89.4	90.2	91.6
CELL-DYN 3431	VCM	90.3	89.8	89	84.2	96.1	87.6	92	89.7	91.6	91.9
CELL-DYN 3411	VCM	91.2	90.4	90.6	85	97.7	88.2	93.2	91	92.3	93.6
MUESTRA		21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ADVIA 3356	VCM	90.8	91.7	94.6	93.6	101.5	102.8	79.2	98.3	108.2	105.1
CELLDYN 3412	VCM	87.1	89.3	91.5	90.7	97.7	98.2	73.2	94.4	103	100
CELL-DYN 3432	VCM	86.5	88.2	91.1	89.9	96.9	97.4	72.7	94.1	103	99.6
CELL-DYN 3431	VCM	86.7	87.9	90.7	90	97	97.8	73.7	94.7	102	99.9
CELL-DYN 3411	VCM	88	89.4	91.9	91.7	98.8	99.3	74.4	95.7	103	101



Grafico 19. Correlación de VCM en los 4 sistemas automatizados CELLDYN 3700.

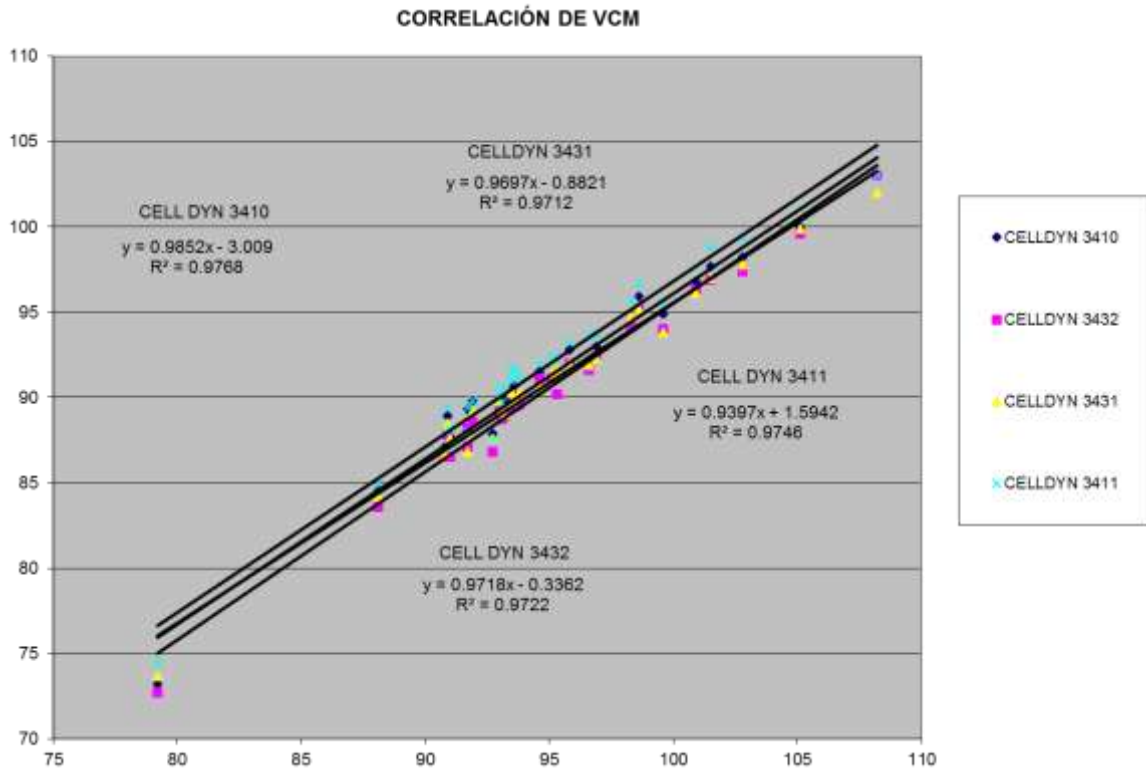


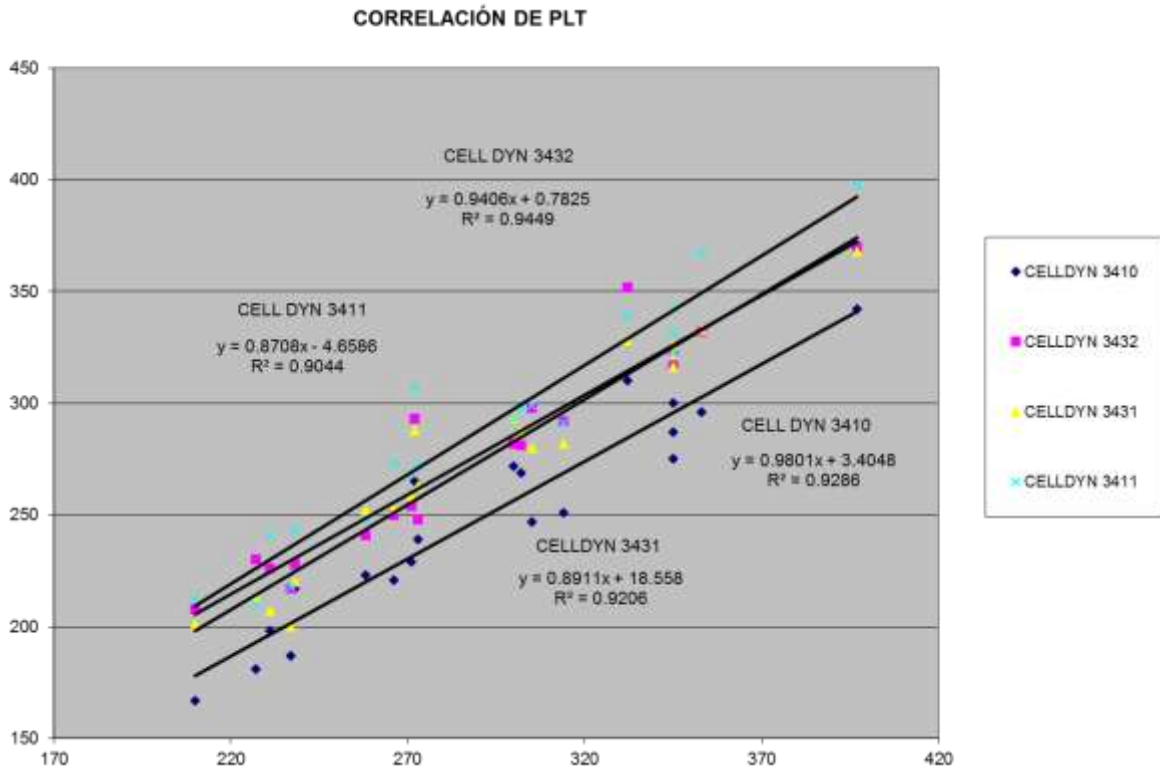


Tabla 65. Resultados obtenidos para PLT en los cinco sistemas automatizados.

MUESTRA		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ADVIA 3354	PLT	227	271	305	273	300	302	397	237	210	332
CELLDYN 3410	PLT	181	229	247	239	272	269	342	187	167	310
CELL-DYN 3432	PLT	230	254	298	248	282	281	370	217	208	352
CELL-DYN 3431	PLT	213	258	280	263	293	288	368	200	201	328
CELL-DYN 3411	PLT	210	269	299	272	293	298	398	218	212	339
MUESTRA		11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
ADVIA 3355	PLT	314	231	345	266	258	353	238	345	272	345
CELLDYN 3411	PLT	251	198	300	221	223	296	217	275	265	287
CELL-DYN 3432	PLT	292	226	316	250	241	332	228	317	293	323
CELL-DYN 3431	PLT	282	207	326	253	252	333	220	322	288	316
CELL-DYN 3411	PLT	291	241	342	273	248	367	243	331	307	322
MUESTRA		21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ADVIA 3356	PLT	244	287	320	342	318	306	319	268	269	307
CELLDYN 3412	PLT	200	251	269	297	273	260	275	231	227	229
CELL-DYN 3432	PLT	241	274	289	336	293	285	325	259	246	263
CELL-DYN 3431	PLT	234	283	285	332	314	287	298	237	233	264
CELL-DYN 3411	PLT	258	299	309	347	327	288	306	256	261	279



Grafico 20. Correlación de PLT en los 4 sistemas automatizados CELLDYN 3700.





DISCUSION

Al hablar de linealidad nos referimos al tramo de la concentración del analito en el que la respuesta del sistema de medición, en este caso CELLDYN 3700, da una función lineal (PRE-DLA-023), la EMA nos indica que el coeficiente de correlación para esta prueba debe de ser de por lo menos 0.99 (EMA, 2008); los cuatro equipos CELLDYN 3700 en los parámetros del conteo leucocitario (WBC) y plaquetario (PLT) obtuvieron coeficientes de correlación superiores al 0.99, por lo tanto es satisfactorio; en cambio al evaluar la linealidad del conteo eritrocitario, los equipos 3431 y 3432 obtuvieron un coeficiente de correlación menor a lo indicado, de 0.9753 y 0.9811 respectivamente lo cual para la EMA no es aceptable, los equipos 3410 y 3411 su coeficiente de correlación en RBC (conteo eritrocitario) es mayor a lo especificado ya que es superior al 0.99. En la cuantificación de hemoglobina encontramos que solo un equipo es tuvo debajo del 0.99, siendo este el 3431 con un coeficiente de correlación de 0.9877.

La evaluación de la linealidad del volumen corpuscular medio (VCM) en los cuatro equipos CELLDYN 3700 arrojó coeficientes de correlación menores al 0.99, lo cual hay que explicar el porqué se obtuvieron dichos resultado. El VCM en un parámetro que no mide una concentración, sino la medida media del volumen eritrocitario que se tienen en la muestra, por lo tanto los datos teóricos que se están dando para las diluciones no es verdadero, porque se están tomando como si fueran concentraciones y no como la media volumétrica que se tiene en cada una de las dilución para esta prueba, aparte hay que mencionar que se está utilizando tecnología de impedancia, en la cual la medida que se obtiene es por el ancho de la partícula, por lo tanto podemos decir que los coeficientes de correlación que se hallaron son aceptables ya que todos son mayores al 0.95.

El porcentaje de error en el intervalo reportable del conteo plaquetario, solo el equipo 3410 no tuvo dicho porcentaje elevado en ninguna dilución, los equipos 3411 y 3431 tuvieron este porcentaje elevado en la dilución de menor concentración, y el equipo 3432 lo tuvo incrementado en la segunda dilución de menor concentración, lo cual indica que se tiene problemas en los conteos de baja concentración plaquetaria, todos los demás parámetros evaluados por porcentaje de error en el intervalo reportable, son satisfactorios.

Para conocer la exactitud que tiene un sistema de medición, se necesita saber la precisión y veracidad. Al evaluar la precisión de un sistema automatizado, estamos evaluando que tanto error aleatorio es el que se tiene al momento de la medición, ya que este tipo de error afecta la reproducibilidad (EMA 2008), la precisión demuestra cuanta variación hay entre nuestros resultados y se evalúa por el coeficiente de variación (CV).



Los cuatro equipos CELLDYN 3700 obtuvieron una precisión totalmente satisfactoria ya que se obtuvieron coeficientes de variación menor a los establecidos por el fabricante, los cuales son los siguientes:

Tabla 66. Coeficientes de variación para evaluar la precisión establecida por el fabricante (Abbott Lb, 2007)

Parámetro	CV
WBC	≤ 2.8
RBC	≤ 1.5
HGB	≤ 1.2
VCM	≤ 1.0
PLT	≤ 15

El criterio de aceptabilidad en presión para la guía de la EMA como también en el procedimiento PRE-DLA-007 “Procedimiento específico para la selección, validación y verificación de métodos analíticos.”, nos establece que el coeficiente de variación debe ser igual o menor a lo establecido por el fabricante.

La veracidad de un sistema automatizado, está relacionado con el error sistemático, también llamado “sesgo” o “desviación” (EMA 2008), ya que la veracidad es la concordancia existente entre la media aritmética de un gran número de resultados y el valor verdadero o aceptado como referencia (EMA 2008). En la evaluación de la veracidad en los cuatro sistemas automatizados CELLDYN 3700, se realizó por porcentaje de error relativo y porcentaje de recuperación; para decir que un resultado es satisfactorio por porcentaje de recuperación tiene que ser igual o lo más cercano a 100, valores menores indican menor cantidad recuperada del analito cuantificado y a mayor porcentaje mayor cantidad del analito recuperado (EMA 2008). En cambio para la veracidad por porcentaje de error relativo, entre menor se a el porcentaje de error mayor será la veracidad (EMA 2008). El criterio de aceptabilidad es que el valor del error relativo sea menor o igual al indicado por el fabricante del equipo, pero en este caso el fabricante no reporta ningún dato para esta evaluación, en cambio el laboratorio en su manual de procedimientos internos PRE-DLA-024 “procedimiento para la verificación de la exactitud de métodos analíticos cuantitativos”, nos indica que el valor para el porcentaje de error relativo es de +/- 10% y para el porcentaje de recuperación 90-100%; bajo estas especificaciones encontramos que los resultados de los equipos CELLDYN 3700 son aceptables, excepto el equipo 3410 en PLT, obteniendo un porcentaje de error relativo de 10.19%; los demás equipos presentaron un porcentaje de error relativo no mayor al 7%, lo cual es aceptado, los datos obtenidos por esta evaluación nos hace saber cuál de los cuatro equipos presenta mayor error en los parámetros evaluados, que aunque está dentro de lo especificado se nota un incremento de error comparado con los demás equipos, este equipo es el 3432, también a través de esta prueba podemos decir que el parámetro con mayor error es en el conteo plaquetario.



La otra evaluación que se realizó para conocer la veracidad de los sistemas automatizados CELLDYN 3700, fue veracidad por comparación de método, en el cual se comparó el sistema automatizado CELLDYN 3700 con el sistema automatizado ADVIA 120, el cual utiliza una metodología de citometría de flujo tanto para el conteo de leucocitos y eritrocitos, para plaquetas se tiene un análisis óptico bidimensional, por lo que lo hace un sistema automatizado más sensible a CELLDYN 3700, el cual utiliza impedancia para conteo de eritrocitos y plaquetas.

En la evaluación por comparación de métodos, la EMA indica que los datos deben presentar una relación uno a uno, y estos deben de aparecer cerca de la línea de nula diferencia, además el manual de “procedimiento para la verificación de la exactitud de métodos analíticos cuantitativos”, PRE-DLA-024 el criterio de aceptabilidad es que por cada 20 datos, solo puede estar fuera de +/- 2DS un valor. Al observar los gráficos de concordancia, observamos que todos los parámetros excepto el conteo plaquetario cumplen con este requisito, lo que indica que tenemos un problema en plaquetas, hay que aclarar que el 93.33% de los datos están dentro +/- 2DS en el conteo plaquetario, pero su evaluación no es satisfactoria, e igualmente en el gráfico de correlación, se observa un coeficiente de 0.8921, mientras que los demás parámetros evaluados el coeficiente de correlación es superior al 0.90, lo cual es aceptado (PRE-DLA-007), el equipo evaluado para la comparación de método fue el 3410.

Para conocer la veracidad de los cuatro equipos y no solo el del equipo 3410, se realizó el estudio de correlación a los cuatro equipos CELLDYN 3700 con el ADVIA 120, verificando también así el conteo plaquetarios del equipo 3410. En esta correlación de los cuatro equipos, se obtuvieron coeficientes de correlación superiores al 0.90, lo cual es satisfactorio y nos indica que los resultados que arrojan los equipos son confiables. Finalmente se realizó la evaluación de arrastre o acarreo, para asegurar que no hay contaminación entre muestra y muestra al momento de procesar, una muestra tras otra, que aunque esta prueba no está descrita en la “Guía para la validación y la verificación de los promedios de exámenes cuantitativos empleados por el laboratorio clínico” es una prueba importante; esta prueba si está incluida en el PRE-DLA-007 “Procedimiento específico para la selección, validación y verificación de métodos analíticos.” Los cuatro equipos CELLDYN 3700 no presentaron arrastre en ninguno de los parámetros evaluados, demostrando así, que no hay contaminación entre muestras al momento de procesar. Los datos de los equipos se compraron con los especificados por el fabricante para esta prueba.



Tabla 67. Arrastre para WBC, RBC, HGB, PLT establecido por el fabricante (Abbott Lb, 2007).

Parámetro	Arrastre
WBC	≤ 0.1
RBC	≤ 0.03
HGB	≤ 0.1
PLT	≤ 10

Todos los parámetros de la biometría hemática son importantes, ya que en conjuntos nos revelan información que ayuda al diagnóstico del paciente; con todas estas pruebas que se realizaron para la validación y verificación de los sistemas automatizados CELLDYN 3700, se rebeló que hay que realizar mejoras, que aunque diariamente se utilizan controles, una al empezar la jornada de proceso y otra a la mitad de jornada, no es suficiente para verificar que nuestros equipos trabajan correctamente, lo cual varios laboratorios solo realizan el pasar controles una vez al día; el que un laboratorio este certificado nos garantiza que los resultados que emite los respalda toda una gestión de calidad, como es la NMX-EC-15189-IMNC / ISO 15189:2007, por lo tanto se demuestra la competencia técnica, ya que se está realizando la validación y verificación de examen cuantitativo, en este caso parámetros de la biometría hemática.

Con esta validación y verificación nos indica las mejoras correspondientes a realizar, que aunque en general los cuatro equipos CELLDYN 3700 trabajan bien ya que hay precisión, veracidad y no presentan arrastre, hay que hacer ajustes, como en el conteo plaquetario, ya que se busca la exactitud en los resultados emitidos.



CONCLUSIONES

Se verificaron los sistemas automatizados CELLDYN 3700 del departamento de Hematología del Laboratorio de referencia internacional Carpermor, mediante el procedimiento PRE-DLA-007 “Procedimiento Especifico para la selección, validación y verificación de métodos analíticos.” El cual está basado en la “Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico”

Se comprendió la importancia de los parámetros de la biometría hemática utilizados para validar y verificar el funcionamiento de los sistemas automatizados CELLDYN 3700, ya que como sabemos el laboratorio clínico es el apoyo para un buen diagnóstico para el paciente y así mismo hay que mencionar que al procesar una muestra detras de ella hay una vida.

Se aplicaron los criterios utilizados para validar y verificar los procedimientos empleados en exámenes cuantitativos para los sistemas automatizados CELLDYN 3700 así mismo se realizaron criterios que la Guía de la EMA no indica, pero es importante su evaluación, como lo es el arrastre o acarreo y correlación (en el caso de la correlación es si se tienen varios equipos para la misma prueba).

Entendimos la importancia que tiene cada uno de los criterios que conforman la validación y verificación de los sistemas automatizados CELLDYN 3700 ya que al evaluar la linealidad, precisión, veracidad y el que no ocurra arrastre de muestra, nos indica el buen funcionamiento de los equipos desde diferentes ángulos.

Conocimos la importancia que tiene la realización de una validación y verificación de métodos cuantitativos en el laboratorio clínico, ya que esta conlleva el asegurar resultados confiables y verídicos, también se entendió que un laboratorio certificado nos garantiza que los resultados emitidos los respalda toda una gestión de calidad, como lo es la NMX-EC-15189-IMNC / ISO 15189:2007.

Se interpretaron los datos obtenidos y así se encontraron algunas observaciones en las que hay que trabajar y mejorar, principalmente en el conteo de plaquetas a baja concentración, por lo tanto bajo los criterios establecidos que se mencionan en este trabajo, la validación se rechaza ya que no se obtuvo la validez técnica que se especifica; hay que mencionar que esto no implica que los resultados emitidos por los equipos CELLDYN 3700 no sean confiables puesto se demostró al compararlos con una metodología más sensible y acreditada por el College of American Pathologists (CAP) la cual es el ADVIA 120, obteniendo resultados satisfactorios.



Lo que se busca al certificar un laboratorio es la excelencia, porque así se ofrece una mejor calidad en los resultados y por lo tanto nos proporciona confianza; hay que aclarar que en México muchos laboratorios clínicos no están certificados, y los que lo están solo es en ciertas pruebas.

Sin embargo, es importante mencionar que para un laboratorio clínico pequeño, realizar una validación y verificación de métodos cuantitativos, es algo difícil, porque hay que tener gran cantidad de muestras para las pruebas a realizar y aparte el gasto de reactivos y controles es muy grande, entendiéndose que no es rentable para todos los laboratorios clínicos.



RECOMENDACIONES:

Como anteriormente se ha mencionado, este trabajo está fundamentado en el PRE-DLA-007 “Procedimiento Especifico para la selección, validación y verificación de métodos analíticos.” El cual así mismo se basa en la “Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico”, pero hay pruebas que no están marcadas por la EMA, mas sí en el PRE-DLA-007, las cuales son el acarreo o arrastre y la correlación, para mi parecer deberían de estar integradas a los criterios establecidos por la EMA, ya que se demostró en este trabajo la importancia que tiene evaluarlas.

Para el cumplimiento y evaluación del punto 5.5.2 de la norma NMX-EC-15189-IMNC / ISO 15189:2007, solo hay que demostrarle a la EMA que los criterios son aceptables bajo cualquiera de las metodologías descritas por la guía que nos proporciona; este trabajo realizó varias metodologías para la veracidad, lo cual arrojó más datos y mas información del funcionamiento de los equipos CELLDYN 3700 que si solo se hubiera realizado una sola metodología, aparte generalmente esta validación y verificación solo se efectúa en un solo equipo CELLDYN 3700 y después se realiza una correlación , esto implica no conocer el funcionamiento individual de los equipos y de esta manera no se detecta en que se está fallando, lo cual se logró en esta verificación y validación de métodos cuantitativos extendida en los equipos CELLDYN 3700.



REFERENCIAS

1. Abbott diagnósticos, Atlas de Hematología con interpretación de histogramas y escatergramas, 1ed, Buenos Aires, 2002.
2. Abbott Laboratories , Química clínica y hematología para ingenieros “ CELL DYN SERIE 3000”.
3. Abbott Laboratories, Guía de referencia rápida Cell-Dyn 3700, 2007.
4. Abbott Laboratories, Manual de operaciones del sistema CELL-DYN 3700, 2007.
5. Almaguer Gaona Carlos, Interpretación de la biometría Hemática, Medicina Universitaria 2003;5(18): pp. 35-40.
6. Campuzano Maya Germán;(2008) Utilidad del extendido de sangre periférica: las plaquetas; Medicina & Laboratorio, VoL. 14, No 11-12, 511-531.
7. Diaz Dios Pedro, Antonio Ocampo Hermida, Javier Fernández Feijo;(2002) Alteraciones cuantitativas y funcionales de los neutrófilos, Medicina oral; Vol. 7, no3; pp. 46-61.
8. Díaz Piedra Pablo, et all;(2012) Determinación de los intervalos de referencia de biometría hemática en población mexicana, Rev Latinoamericana Patología Clínica, Vol. 59, Núm. 4, pp. 243-250 • Octubre - Diciembre, 2012
9. Fernando Santini, Claudia Crosta;(2000) El eosinófilo, Revista de HPC;Vol. 3. No.2 Agosto-Diciembre; pp. 135-138.
10. Garcia Gonzales, et all;(2011) Utilidad de la biometría hemática en la práctica clínica “Eritrocitos”, Rev Sanidad Militar Mexicana, vol 65, No 6, 292-300.
11. Garcia Gonzales, et all;(2012) Utilidad de la biometría hemática en la práctica clínica “Leucocitos”, Rev Sanid Milit Mex, vol 66, No 1, 38-46.
12. Guía para la validación y la verificación de los promedios de exámenes cuantitativos empleados por el laboratorio clínico. Fecha de emisión 2008-04-15, fecha de entrada en vigor 2008-09-01, revisión 00.
13. InfoMed Red de salud de Cuba, Seminario de sangre y tejido Hematopoyetico, [En línea], actualizado el 21/02/2013, consultado el 23/02/2013
14. http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/histologia/sangre_y_tejido_hematopoyetico.pdf.



-
15. PRE-DLA-007 “Procedimiento específico para la selección, validación y verificación de métodos analíticos.”
 16. PRE-DLA-023”procedimientos específicos para la evaluación de la linealidad de métodos analíticos cuantitativos.”
 17. Vega Robledo Gloria Bertha, (2009) Inmunología para el médico general, “Linfocitos”, Revista Facultad de Medicina UNAM, Vol. 52 no. 6 Noviembre-Diciembre, pp. 276-277.