

## Variabilidad biológica intraindividual de las magnitudes citohematológicas como objetivo de calidad analítica

Carlos V. Jimenez.<sup>a</sup>

### Resumen

*La imprecisión analítica deseable para los métodos de determinación de las magnitudes hematológicas siempre ha sido un tema controvertido. Actualmente, está ampliamente aceptado el uso de la variación biológica para el establecimiento de la misma.*

*Para cumplir con este objetivo se estimaron los componentes de la variación analítica intra e interserial, así como los de la biológica intraindividual para eritrocitos, hemoglobina, fracción de volumen de eritrocitos en sangre, volumen eritrocitario medio, hemoglobina eritrocitaria media, concentración media de hemoglobina eritrocitaria, índice de distribución de eritrocitos, leucocitos y recuento diferencial (en concentración y en fracción de número), plaquetas, volumen plaquetar medio, índice de distribución de plaquetas y fracción de volumen de plaquetas en sangre, en un grupo de 35 voluntarios durante 6 meses a intervalos mensuales.*

*Las determinaciones se efectuaron en un analizador automático de flujo continuo Technicon® H-6000.*

*Los resultados de la variación intraindividual y, por tanto, del objetivo analítico obtenidos coinciden con los de la literatura para la serie roja, leucocitos y plaquetas, presentando ligeras diferencias en los linfocitos y monocitos en unidades de concentración.*

*Se proponen asimismo, los objetivos analíticos para neutrófilos, eosinófilos, basófilos, índices de distribución de eritrocitos y plaquetas, volumen plaquetar medio y fracción de volumen de plaquetas en sangre.*

### Summary

*Desirable analytical performance standards for haematology tests are a controversial subject.*

*Nowadays, it is widely believed that the best general strategy towards the setting of analytical goals is that based upon pure within subject biological variation.*

*Analytical and within-subject biological variations were estimated monthly for erythrocytes, haemoglobin, hematocrit, mean cell volume, mean cell haemoglobin, mean cell haemoglobin content, erythrocyte distribution width, platelets, mean platelet volume, platelet distribution width, plateletcrit, leukocyte count and differential count (in both concentration and percentage), in a group of 35 healthy volunteers during a six monthly intervals.*

*Assays were performed in duplicate with a Technicon® H-6000 analyzer.*

*Analytical goals found in this work were almost identical to those obtained by other authors for leukocytes count, platelet and erythrocytic serie. Lymphocytes and monocytes showed little difference (in absolute terms).*

*Analytical goals have been proposed for neutrophils, eosinophils, basophils, erythrocyte and platelet distribution width, mean platelet, volumen and plateletcrit.*

### Introducción

En este estudio se tuvo como finalidad principal establecer la imprecisión analítica deseable u objetivos de calidad analítica para los métodos de medida de las magnitudes de las series roja sanguínea, leucocitaria y plaquetar. Para ello se realizó un seguimiento durante seis meses a 35 voluntarios presuntamente sanos y cuyas edades estuvieron comprendidas entre 23 y 56 años.

<sup>a</sup>Servicio de Análisis Clínicos.  
C.A.P. II «Santa Coloma». Barcelona  
Recibido 3-9-91  
Aceptado 15-12-91

La escasez de publicaciones en hematología sobre protocolos de evaluación de la imprecisión analítica de los métodos de determinación de las magnitudes citohematológicas, ha motivado la realización de este estudio, basándonos para ello en la estimación de la variabilidad biológica intraindividual de dichas magnitudes.

Para cumplir con este objetivo se estimaron los componentes de la variación analítica intra e interserial, así como los de la biológica intraindividual para la concentración de eritrocitos, hemoglobina, fracción de volumen de eritrocitos en sangre, volumen eritrocitario medio, hemoglobina eritrocitaria media, concentración de hemoglobina eritrocitaria media, índice de distribución de los eritrocitos, leucocitos y el recuento diferencial (neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos, en concentración y en fracción de número) plaquetas, volumen plaquetar medio, índice de distribución de plaquetas y fracción de volumen de plaquetas en sangre.

## Individuos, material y métodos

### Individuos

Los voluntarios del estudio se seleccionaron en base a su edad (entre 20-60 años), ausencia de enfermedades y no administración crónica de fármacos. En total se seleccionaron 35 individuos (54% mujeres y 46% hombres).

### Especímenes

Se recogieron de forma estandarizada (1) seis especímenes a intervalos mensuales de cada uno de los voluntarios. Los especímenes se obtuvieron, estando los individuos en ayunas (8-10 horas), entre las 8:00 y las 9:30 horas de la mañana, en el mismo laboratorio, por el mismo técnico, por punción venosa, según el sistema de extracción con tubos al vacío que contenían EDTA tripotásico como anticoagulante.

### Proceso analítico

Las determinaciones se realizaron dentro de las primeras dos horas tras la extracción, llevándose a cabo por duplicado sobre dos especímenes distintos de un mismo individuo. Las segundas determinaciones de cada uno de los voluntarios se realizaron a continuación de todas las primeras.

El análisis se efectuó con el analizador automático de flujo continuo Technicon® H-6000 (Technicon Instruments Corporation, Tarrytown, USA), utilizando su propio sistema de calibración (Technicon QOC Hematology Calibrator, T03-0681).

La imprecisión interserial se estimó a partir de los resultados obtenidos con el material de control de calidad de Technicon® (Technicon Test point Assayed Hematology Control-N, T03-3179).

### Análisis estadístico:

El procedimiento estadístico seguido fue el propuesto por Fraser y Harris (2) y que, en parte, se resume en los siguientes puntos:

— variancia analítica intraserial de duplicados de pacientes:

$$s_a^2 = \Sigma(d)^2 / 2 \times n$$

siendo  $\Sigma(d)^2$  la suma de las diferencias de los duplicados, y  $n$  el número total.

— variancia biológica intraindividual total ( $s_{i+a}^2$ ): se tomó el fractil 0,5 de las variancias de los datos de cada individuo: incluye, además, la variancia analítica interserial. Para la estimación de esta variancia se utilizaron los datos generados por los primeros especímenes de cada individuo.

— variancia biológica intraindividual neta ( $s_i^2$ ): resultado de restar la variancia analítica interserial ( $s_a^2$ ) de la variancia biológica intraindividual total.

$$s_i^2 = s_{i+a}^2 - s_a^2$$

— objetivo analítico: se aplicó el coeficiente de variación analítico igual o inferior a la mitad del coeficiente de variación biológico intraindividual neto.

— se comprobó la no existencia de valores extremos entre los seis especímenes de un mismo individuo, mediante la prueba  $C$  de Cochran (3) de homogeneidad de variancias.

$$C \text{ de Cochran} = (s_{i+a}^2) \text{ máx.} / \Sigma s_{i+a}^2$$

La no homogeneidad de las variancias intraindividuales se establece cuando la  $C$  observada supera el valor crítico fijado por el número de grupos, grados de libertad de las series y el riesgo de primera especie, alfa.

— se comprobó la no existencia de valores medios individuales extremos mediante el criterio de Reed: se excluyen del estudio aquellos individuos cuya diferencia entre su valor medio para la serie y el inmediato inferior o superior, superen la tercera parte de la amplitud de todos los valores medios.

## Resultados

La tabla I muestra los resultados medios obtenidos entre todos los individuos del estudio, la mediana de la variación biológica intraindividual y el objetivo de calidad analítica, expresados estos últimos como coeficiente de variación porcentual ( $CV$ , %) para las magnitudes de la serie roja, leucocitaria y plaquetar.

Los valores expresados engloban ambos sexos ya que

**Tabla I**  
**Valores medios globales, mediana de la variación biológica intraindividual (CV,%) y objetivo analítico de calidad (CV,%) para las magnitudes cito-hematológicas**

Constituyentes	Unidades	$\bar{x}$	Intraindividual	Objetivo analítico
San-Eritrocitos, C	10 <sup>12</sup> /L	4,62	2,1	1,0
San-Hemoglobina, g	g/L	142	2,4	1,2
San-Eritrocitos, $\phi$	l	0,42	2,2	1,1
San-Eritrocitos, V	fL	90,8	0,9	0,4
(San)-Ers ( $\bar{x}$ )-Hemoglobina, m	pg	30,7	1,2	0,6
(San)-Ers ( $\bar{x}$ )-Hemoglobina, g	g/L	338	1,8	0,9
(San)-Ers (índice distribución), $\sigma$	l	0,16	5,2	2,8
San-Leucocitos, C	10 <sup>9</sup> /L	6,81	9,3	4,7
San-Neutrófilos, C	10 <sup>9</sup> /L	3,88	15,6	7,8
San-Linfocitos, C	10 <sup>9</sup> /L	2,23	4,4	2,2
San-Monocitos, C	10 <sup>9</sup> /L	0,37	24,6	12,3
San-Eosinófilos, C	10 <sup>9</sup> /L	0,19	21,2	10,6
San-Basófilos, C	10 <sup>9</sup> /L	0,03	28,0	14,0
San-Neutrófilos, $\nu$	l	0,57	5,4	2,7
San-Linfocitos, $\nu$	l	0,33	10,0	5,0
San-Monocitos, $\nu$	l	0,05	19,7	9,8
San-Eosinófilos, $\nu$	l	0,03	23,6	11,8
San-Basófilos, $\nu$	l	0,004	33,1	16,6
San-Plaquetas, C	10 <sup>9</sup> /L	225	9,8	4,9
San-Plaquetas, V	fL	8,1	5,6	2,8
San-Plaquetas, $\phi$	l	0,002	12,3	6,1
(San)-Pqs (índice distribución), $\nu$	l	0,41	2,8	1,4

no se puso de manifiesto diferencias entre las variancias intraindividuales de ambos; si bien es cierto que para algunas magnitudes existen diferencias estadísticas entre los valores medios de ambos sexos, éstas no afectan a las variancias intraindividuales.

La tabla II compara los coeficientes de variación analíticos deseables obtenidos en nuestro estudio con los publicados por Fraser (4,5,6) y un promedio entre los de éste último y los de Statland (7,8).

## Discusión

La variabilidad biológica puede aplicarse a todas las disciplinas del laboratorio siendo, pues, generalizable su utilidad para establecer los límites de imprecisión analítica. Son más numerosas las publicaciones sobre este tema en química clínica; en hematología son más escasos los protocolos sobre la evaluación de la imprecisión e inexactitud de las magnitudes cito-hematológicas, así como

**Tabla II**  
**Comparación de los objetivos analíticos (CV,%) estimados en el estudio con los de la literatura**

Constituyentes	Unidades	Objetivo analítico		
		Estudio	Fraser <sup>4</sup>	Fraser <sup>4</sup> /Statland <sup>7-8</sup>
San-Eritrocitos, C	10 <sup>12</sup> /L	1,0	1,1	2,1
San-Hemoglobina, g	g/L	1,2	1,3	1,2
San-Eritrocitos, $\phi$	l	1,1	1,3	1,3
San-Eritrocitos, V	fL	0,4	0,6	1,1
(San)-Ers ( $\bar{x}$ )-Hemoglobina, m	pg	0,6	0,4	0,8
(San)-Ers ( $\bar{x}$ )-Hemoglobina, g	g/L	0,9	0,4	0,8
(San)-Ers (índice distribución), $\sigma$	l	2,8	—	—
San-Leucocitos, C	10 <sup>9</sup> /L	4,7	5,6	6,7
San-Neutrófilos, C	10 <sup>9</sup> /L	7,8	—	—
San-Linfocitos, C	10 <sup>9</sup> /L	2,2	4,7	5,4
San-Monocitos, C	10 <sup>9</sup> /L	12,3	5,9	7,0
San-Eosinófilos, C	10 <sup>9</sup> /L	10,6	—	—
San-Basófilos, C	10 <sup>9</sup> /L	14,0	—	—
San-Granulocitos, C	10 <sup>9</sup> /L	10,8	9,2	10,9
San-Plaquetas, C	10 <sup>9</sup> /L	4,9	4,5	4,5

el criterio de las decisiones clínicas tomadas en base a los límites de referencia o a una diferencia significativa entre dos determinaciones seriadas.

Los objetivos de calidad analítica de los métodos de determinación de las magnitudes hematológicas siempre han sido un tema controvertido. Actualmente, está ampliamente aceptado el uso de la variación biológica para el establecimiento de los mismos. Estos objetivos analíticos, aunque deseables de alcanzarse, no deben interpretarse como criterios inflexibles para la aceptación o rechazo de las series analíticas (4).

En este estudio los coeficientes de variación que fijan el objetivo de calidad analítica alcanzan cotas francamente bajas en la serie roja. Ello, posiblemente, esté relacionado con la larga vida media de los eritrocitos, que le proporciona una escasa variabilidad intraindividual. Costongs et al (9) comentan que el coeficiente de variación intraindividual parece ser inversamente proporcional a la vida media de las magnitudes cito-hematológicas.

La imprecisión analítica deseable para los métodos de determinación de las magnitudes que son objeto de este estudio, calculada a partir del procedimiento propuesto por Harris (10) (coeficiente de variación analítico igual o inferior a la mitad del coeficiente de variación biológico intraindividual), mostraron una coincidencia con los de la literatura para la serie eritrocitaria, leucocitaria y plaquetar. Se observaron ligeras diferencias en los linfocitos y monocitos en unidades de concentración.

En este trabajo se proponen, además, los objetivos de calidad para neutrófilos, eosinófilos y basófilos. Este hecho permite el control de la imprecisión analítica de aquellos analizadores automáticos que determinan las cinco poblaciones leucocitarias.

Se proporcionan, asimismo, las imprecisiones analíticas deseables para el índice de distribución de eritrocitos y plaquetas, volumen plaquetar medio y fracción de volumen de plaquetas.

Por tanto, el trabajo centra su utilidad en el conocimiento de la variación analítica deseable, estimados a partir del estudio de la variabilidad biológica intraindividual, para diferentes magnitudes citohematológicas.

## Agradecimientos

El autor agradece la desinteresada colaboración de los voluntarios del estudio, en especial al personal del laboratorio del C.A.P. II de Santa Coloma, por su inestimable ayuda en la obtención y proceso de las muestras.

## Bibliografía

1. International Committee for Standardization in Haematology. Standardization of blood specimen collection procedure for reference values. *Clin Lab Haematol* 1982; 4: 83-86.
2. Fraser CG, Harris EK. Generation and application of data on biological variation in clinical chemistry. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* 1989; 27: 409-437.

3. Testing the equality of several variances. En: Lothar Sachs. *Applied statistics*. 2º ed. New York: Springer-Verlag, 1984: 497-498.
4. Fraser CG, Stephen P, Wilkinson MB. Biologic variation of common haematologic laboratory quantities in the elderly. *Am J Clin Pathol* 1989; 92: 465-470.
5. Fraser CG. Review article. Analytical goals for hematology tests. *Eur J Haematol* 1990; 45 suppl. 53. chapter. 1. General Quality Assurance.
6. Fraser CG. Analytical goals are applicable to all. *Journal of IFCC* 1990; 2: 84-86.
7. Statland BE, Winkel P, Harris SC. Evaluation of biologic sources of variation of leukocyte counts and other hematologic quantities using very precise automated analyzers. *Am J Clin Pathol* 1977; 69: 48-54.
8. Statland BE, Winkel P. Effects of preanalytical factors on the intraindividual variation of analytes in the blood of healthy subjects. Consideration of preparation of de subject and time of venepuncture. *CRC Crit Rev Lab Sci* 1977; 10: 105-144.
9. Costongs GMPJ, Janson PCV, Bas BM. Short-term and long term intra-individual variations and critical differences of clinical chemical laboratory parameters. *J Clin Chem Clin Biochem* 1985; 23: 7-16.
10. Harris EK. Statistical principles underlying analytic goal-setting clinical chemistry. *Am J Clin Pathol* 1979; 72: 374-382.