

## ORIGINAL

# Estudio comparativo de la morfología de sangre periférica analizada mediante el microscopio y el CellaVision DM96 en enfermedades hematológicas y no hematológicas

Anna Merino<sup>a,\*</sup>, Rosa Brugués<sup>a</sup>, Rosario García<sup>b</sup>, Marta Kinder<sup>b</sup>, Ferrán Torres<sup>c</sup> y Ginés Escolar<sup>d</sup>

<sup>a</sup> Laboratori Core, Servei d'Hemoteràpia-Hemostàsia, CDB, Hospital Clínic de Barcelona, IDIBAPS, Barcelona, España

<sup>b</sup> Laboratori Core, CDB, Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, España

<sup>c</sup> UASP, Hospital Clínic de Barcelona, IDIBAPS, Barcelona, España

<sup>d</sup> Servei d'Hemoteràpia-Hemostàsia, Hospital Clínic de Barcelona, IDIBAPS, Barcelona, España

Recibido el 12 de julio de 2010; aceptado el 23 de octubre de 2010

Disponible en Internet el 20 de febrero de 2011

### PALABRAS CLAVE

Morfología de sangre periférica;  
CellaVision DM96

### Resumen

**Introducción:** La revisión de la citología de sangre periférica es un punto de partida imprescindible para el diagnóstico de la mayoría de las enfermedades hematológicas, e incluso no hematológicas.

**Objetivo:** Evaluar la concordancia entre los resultados obtenidos al realizar el recuento diferencial leucocitario mediante el sistema de análisis digital CellaVision DM96 (DM96) y el microscopio óptico convencional.

**Material y métodos:** Se analizaron 234 extensiones de sangre periférica, de pacientes del Hospital Clínic de Barcelona con cifras de leucocitos entre  $1,12$  y  $282 \times 10^9/L$ . 177 preparaciones correspondieron a pacientes con enfermedades hematológicas. Se compararon los porcentajes de neutrófilos, bandas, eosinófilos, basófilos, linfocitos, monocitos, células linfoides reactivas, metamielocitos, mielocitos, promielocitos, blastos, células plasmáticas y eritroblastos PRE y POST obtenidos con el DM96 y al microscopio.

**Resultados:** La correlación de los resultados del DM96 PRE con respecto al microscopio fue excelente para neutrófilos, linfocitos, monocitos, y blastos ( $r > 0,87 < 0,94$  y  $p < 0,0001$ ) y aceptable para bandas, eosinófilos, basófilos y células plasmáticas ( $r > 0,74 < 0,81$  y  $p < 0,0001$ ). Después de la reclasificación celular, los coeficientes de concordancia fueron excelentes ( $> 0,7$ ) para promielocitos y mielocitos, intermedios para células linfoides reactivas y eritroblastos ( $> 0,5$  y  $< 0,7$ ), y bajos ( $< 0,5$ ) para los metamielocitos. No se observaron falsos negativos en la detección de blastos por el DM96 (97 casos). Con excepción de las células linfoides reactivas y blastos linfoides, el equipo no preclasificó otras células linfoides atípicas, que debieron ser identificadas por el citólogo.

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [amerino@clinic.ub.es](mailto:amerino@clinic.ub.es) (A. Merino).

**KEYWORDS**

Peripheral blood morphology;  
CellaVision DM96

**Conclusiones:** El análisis morfológico de sangre periférica mediante el equipo CellaVision DM96 muestra una buena concordancia con respecto al microscopio, y representa un avance tecnológico para el laboratorio de Hematología con un número elevado de muestras. Tiene ventajas adicionales, tales como mejorar las condiciones ergonómicas, mayor rapidez, asegurar la trazabilidad y facilitar la docencia.

© 2010 AEBM, AEFA y SEQC. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

### Comparative study of peripheral blood morphology in manual microscopy and the CellaVision DM96® in hematological and non-hematological diseases

**Abstract**

**Introduction:** Differential leukocyte counts of peripheral blood cells are an important diagnostic tool.

**Objective:** We evaluated the CellaVision DM96 (CellaVision AB, Lund, Sweden), an automated system for digital peripheral blood cell analysis.

**Material and methods:** We analysed 234 blood films in which leukocyte values were from 1.12 to  $282 \times 10^9/L$ . A total of 177 blood films were from patients with hematological diseases.

**Results:** Correlation coefficients between results obtained from the CellaVision DM96 preclassification and by conventional direct microscopy were excellent for segmented neutrophils, lymphocytes, monocytes and blasts ( $r > 0.87 < 0.94$  and  $P < .0001$ ) and good for band neutrophils, eosinophils, basophils and plasma cells ( $r > 0.74 < 0.81$  and  $P < .0001$ ). After the reclassification of the cells, very good concordance coefficients were observed for promyelocytes and myelocytes ( $> 0.7$ ), intermediate for reactive lymphocytes and erythroblasts ( $> 0.5$  and  $< 0.7$ ) and low ( $< 0.5$ ) for metamyelocytes. Whatever the pathology and the number of blasts on the films, all 97 patients were positive for blast detection on the DM96. Pathological cells such as prolymphocytes, large granular lymphocytes, hairy cells, Sézary cells and other atypical lymphocytes were reclassified by the user.

**Conclusions:** Advantages of the CellaVision DM96 over direct microscopy include, requires less time than manual differentiation, is a good tool for educational purposes, improve the traceability of the results, and can have an important role in a modern Hematology Laboratory.

© 2010 AEBM, AEFA y SEQC. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

**Introducción**

La sangre periférica (SP) es un fluido orgánico fácilmente accesible, por lo que su estudio representa el eslabón analítico inicial en el diagnóstico de muchas enfermedades<sup>1-3</sup>. Aunque con el desarrollo de los sofisticados autoanalizadores hematológicos basados en la citometría de flujo la proporción de muestras sanguíneas que requieren un recuento diferencial manual oscila en torno a un 15%, el examen minucioso de los elementos formes de la sangre constituye, en la actualidad, una herramienta fundamental en el diagnóstico. El análisis de la citología de SP es crucial para el diagnóstico de determinadas infecciones (mononucleosis infecciosa), parasitosis (paludismo), así como para el diagnóstico diferencial de anemias y trombocitopenias, y para la identificación y caracterización de diferentes hemopatías malignas.

La solicitud de un examen citológico de SP puede obedecer a la observación de determinados signos de alarma en el hemograma. Constituyen signos de alarma en el hemograma el hallazgo de leucocitosis junto a plaquetopenia y/o anemia (posible enfermedad hematológica), leucocitosis y trombocitosis (probable síndrome mieloproliferativo crónico) o leucopenia aislada (descartar una leucemia aguda o un síndrome mielodisplásico). La positividad de determinadas alarmas de los autoanalizadores hematológicos por células atípicas o blastos obligan, asimismo, a la realización de la revisión morfológica del frotis.

Por otra parte, es de interés resaltar la estrecha colaboración durante los últimos años entre matemáticos, ingenieros y citólogos, fruto de la cual ha sido la puesta a punto de técnicas automatizadas para el procesamiento de imágenes de las células sanguíneas normales<sup>4-6</sup>. A partir de una técnica automatizada de procesamiento de imágenes mediante una red neuronal artificial, y aplicada a la diferenciación de los leucocitos de SP, se ha desarrollado el equipo CellaVision™ DM96 (DM96) o sistema automatizado de análisis de imagen (CellaVision AB, Lun, Suecia), que realiza una preclasificación de las células nucleadas de SP, así como una valoración morfológica automatizada de la serie roja.

El presente trabajo tiene como objetivos evaluar la correlación y concordancia entre los resultados obtenidos al realizar la fórmula o recuento diferencial leucocitario (RDL) de SP mediante el sistema de análisis digital DM96 y el microscopio óptico convencional, así como analizar las posibles ventajas o inconvenientes de su utilización en la práctica asistencial diaria del laboratorio de Hematología.

**Material y métodos**

Se analizaron 234 extensiones de SP, correspondientes a pacientes del Hospital Clínic de Barcelona (130 hombres y 104 mujeres entre 16 y 90 años), teñidas con May Grünwald Giemsa (MGG) y con cifras de leucocitos entre  $1,12$  y  $282 \times 10^9/L$ .

**Tabla 1** Distribución de los diagnósticos hematológicos en 177 pacientes.

Diagnósticos hematológicos	N
Gammapatía monoclonal de significado incierto	2
Mieloma múltiple	21
Leucemia linfática crónica	23
Tricoleucemia	3
Linfoma del manto	1
Linfoma de Hodgkin	2
Leucemia prolinfocítica T	2
Síndrome de Sézary	6
Otras neoplasias linfoides	23
Leucemia aguda	33
Leucemia mieloide crónica	11
Mielofibrosis	2
Síndrome mielodisplásico	18
Leucemia mielomonocítica crónica	6
Leucemia aguda en remisión	19
Policitemia vera	1
Púrpura trombopénica idiopática	1
Hemoglobinuria paroxística nocturna	2
Drepanocitosis	1
Total	177

N equivale al número de casos.

Del total de preparaciones, 177 correspondieron a pacientes con las siguientes enfermedades hematológicas: neoplasias linfoides: 83, leucemias agudas (LA): 52 (19 de ellas en remisión), síndromes mieloproliferativos crónicos (SMPC): 20, síndromes mielodisplásicos (SMD): 18, hemoglobinuria paroxística nocturna: 2, drepanocitosis: 1 y púrpura trombopénica idiopática: 1 (tabla 1). Cincuenta y siete preparaciones correspondieron a pacientes con enfermedades no hematológicas procedentes de diferentes salas y consultas externas del hospital (tabla 2). Las muestras de sangre recogidas en EDTA-K3 se analizaron en el equipo Advia 2120 (Siemens Healthcare Diagnostics SL), y aquellas que presentaron criterios para la realización del análisis del frotis o RDL fueron procesadas en el extensor teñidor Cell-Dyn SMS (Abbott Científica SA).

Se efectuó la fórmula leucocitaria a 100 elementos utilizando el microscopio y el DM96. Este equipo consta de una unidad para escanear las extensiones de SP previamente teñidas con MGG mediante un microscopio motorizado (BX50W1, Olympus Europe, Hamburgo, Alemania) con tres objetivos ( $\times 10$ ,  $\times 50$  y  $\times 100$ ), una cámara y un *software* (CellaVision™, Lund, Suecia) para la adquisición y clasificación de las células. El DM96 admite al mismo tiempo hasta 8 soportes con 12 frotis cada uno. De forma automática el equipo deposita aceite de inmersión sobre las extensiones, y lee el código de barras identificativo de cada una de ellas. El DM96 localiza la monocapa de hematíes, realiza fotografías de los leucocitos que en ella encuentra con el objetivo de 100 aumentos, y presenta las imágenes en pantalla realizando una preclasificación de los mismos (PRE). El citólogo experto verificó la preclasificación sugerida por el analizador y, de una manera fácil y rápida, la modificó cuando fue necesario (reclasificación o POST). Las imágenes del equipo

**Tabla 2** Distribución de los diagnósticos no hematológicos en 57 pacientes.

Otros diagnósticos	N
Amiloidosis	2
Anemia en estudio	5
Malaria	2
Neoplasia	9
VIH	5
Linfocitosis	1
Hepatitis	3
Cirrosis hepática	3
Colitis ulcerosa	1
Pancreatitis	2
Ancylostoma duodenal	1
Quiste hidatídico	1
Coledocolitiasis	1
Shock séptico	1
Sarcoidosis	1
Cardiopatía	2
Fiebre origen desconocido	2
Trasplante hepático	1
Trasplante páncreas	1
Trasplante renal	1
Infección post cirugía	1
Enfermedad de Wilson	1
Artroplastia de cadera	1
Wernicke-Korsakoff	1
Porfiria eritropoyética congénita	1
Desconocido	7
Total	57

N equivale al número de casos.

permitieron asimismo realizar la valoración de la morfología eritrocitaria y de las plaquetas.

En el presente estudio se compararon los porcentajes de neutrófilos, bandas, eosinófilos, basófilos, linfocitos, monocitos, células linfoides reactivas (CLR), metamielocitos, mielocitos, promielocitos, blastos, células plasmáticas y eritroblastos PRE y POST obtenidos mediante el DM96 y al microscopio. Asimismo se valoró la preclasificación por el DM96 de las plaquetas gigantes, agregación plaquetaria y «*smudge cells*» (incluye las sombras nucleares de Gumprecht y las células rotas), así como la detección de alteraciones morfológicas eritrocitarias.

El análisis estadístico de los resultados se realizó utilizando regresión lineal y los *test* de concordancia de Bland-Altman y Lin<sup>7-10</sup>.

## Resultados

En primer lugar es preciso señalar que fue muy importante la obtención de preparaciones adecuadas, tanto por el grosor como por la tinción, para que la observación de los elementos sanguíneos se realizara en las condiciones más idóneas mediante el microscopio y con el DM96.

Las imágenes digitales obtenidas fueron de muy buena calidad, y permitieron la detección de las diferentes anomalías observadas al microscopio en las tres series hematopoyéticas, tales como signos displásicos, inclusiones o

**Tabla 3** Coeficientes de correlación de Pearson (CorPearson), y de concordancia de Lin (Concord\_Lin) entre los valores de la preclasificación de los subtipos celulares de sangre periférica realizada por el CellaVision DM96 (DM96PRE) y de la reclasificación realizada por el facultativo (DM96POST) en relación a los obtenidos al microscopio.

Subtipo celular	MICRO-DM 96PRE CorPearson	MICRO-DM 96POST CorPearson	MICRO-DM 96PRE Concord_Lin	MICRO-DM 96POST Concord_Lin	MICRO-DM 96PRE IC 95%*	MICRO-DM 96POST IC 95%*
Neutrófilos	0,93	0,942	0,92	<b>0,942</b>	0,910-0,946	<b>0,925-0,955</b>
Bandas	0,75	0,851	0,748	<b>0,84</b>	0,684-0,800	<b>0,799-0,874</b>
Eosinófilos	0,796	0,908	0,729	<b>0,907</b>	0,674-0,777	<b>0,882-0,928</b>
Basófilos	0,742	0,779	0,729	<b>0,773</b>	0,663-0,784	<b>0,716-0,820</b>
Linfocitos	0,922	0,941	0,92	<b>0,939</b>	0,898-0,938	<b>0,922-0,953</b>
Monocitos	0,872	0,902	0,868	<b>0,898</b>	0,832-0,896	<b>0,871-0,920</b>
Metamielocitos	0,591	0,487	0,393	0,378	0,323-0,458	0,293-0,457
Mielocitos	0,661	0,836	0,637	<b>0,833</b>	0,557-0,706	<b>0,789-0,869</b>
Promielocitos	0,444	0,818	0,388	<b>0,778</b>	0,289-0,480	<b>0,729-0,819</b>
Blastos	0,94	0,988	0,898	<b>0,988</b>	0,876-0,915	<b>0,984-0,991</b>
Plasmáticas	0,81	0,942	0,711	<b>0,884</b>	0,660-0,755	<b>0,863-0,902</b>
CLR	0,452	0,531	0,363	0,514	0,273-0,447	0,417-0,599
Eritroblastos	0,377	0,613	0,292	0,598	0,198-0,381	0,512-0,673

En negrita se resaltan los valores DM96POST con una alta concordancia ( $> 0,71$ ).

IC: intervalo de confianza; \*IC Lin  $< 0,5$ : concordancia baja; \*IC Lin 0,50001-0,7: concordancia intermedia; \*IC Lin 0,70001-1: concordancia alta.

parásitos. El tiempo medio para la lectura de cada una de las preparaciones fue de alrededor de 90 segundos, llegando a ser de hasta tres minutos para aquellas extensiones con recuentos leucocitarios cercanos a  $1 \times 10^9/L$ . Los RDL fueron patológicos en 120 casos y normales en 114.

### DM96 PRE y POST

La correlación de los resultados del DM96 PRE con respecto al microscopio fue excelente para neutrófilos ( $r=0,93$ ), linfocitos ( $r=0,922$ ), monocitos ( $r=0,872$ ) y blastos ( $r=0,94$ ) ( $p < 0,0001$ ), y aceptable para bandas, eosinófilos, basófilos y células plasmáticas ( $r > 0,74 < 0,81$  y  $p < 0,0001$ ). Los coeficientes de concordancia fueron superiores a 0,7 (alta concordancia), aunque el intervalo de confianza fue inferior (entre 0,6 y 0,8) para bandas, eosinófilos, basófilos y células plasmáticas.

Los coeficientes de Pearson y de concordancia de Lin fueron más altos, es decir, mejores, al comparar los valores del recuento diferencial leucocitario DM96 POST respecto al microscopio, que al comparar la preclasificación o DM96 PRE en todas las subpoblaciones leucocitarias mencionadas (figuras 1 a 16).

Con respecto a los porcentajes del DM96 POST del resto de los subtipos leucocitarios analizados, los coeficientes de concordancia fueron excelentes ( $> 0,7$ ) para promielocitos y mielocitos, intermedios para células linfoides reactivas y eritroblastos ( $> 0,5$  y  $< 0,7$ ), y bajos ( $< 0,5$ ) para metamielocitos (tabla 3).

### DM96 en leucemias agudas

No se observaron falsos negativos en la detección de blastos por el DM96 (97 casos). Es decir, que el DM96 preclasificó un determinado porcentaje de blastos en todas las preparacio-

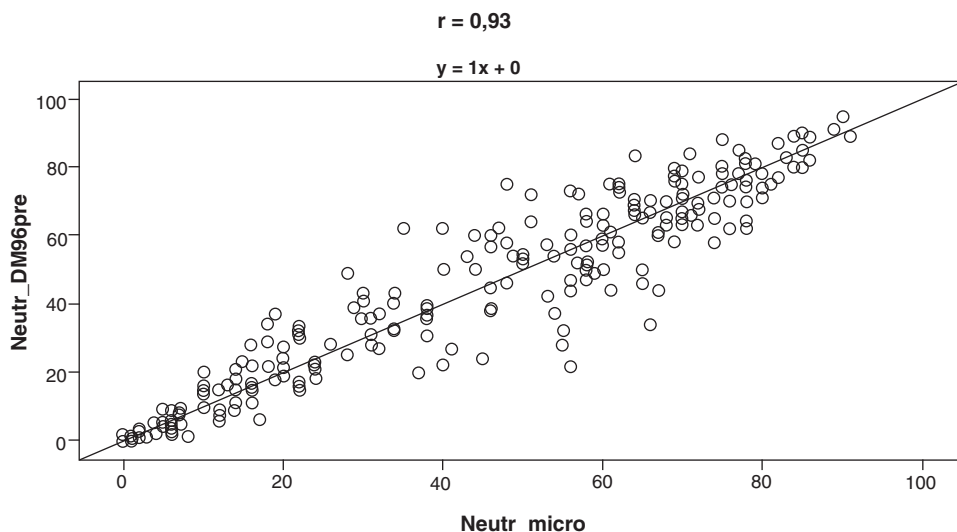
nes con recuentos de blastos en SP mediante microscopio. Sin embargo, en los casos de LA linfoides los porcentajes de blastos obtenidos mediante el microscopio óptico convencional fueron siempre superiores a los del DM96, debido a que algunos de estos elementos blásticos fueron preclasificados por el analizador como linfocitos.

### DM96 en síndromes mieloproliferativos y mielodisplásicos

Como se ha señalado anteriormente, con excepción de los metamielocitos, los porcentajes de serie blanca inmadura preclasificados por el DM96 mostraron una buena concordancia respecto a los obtenidos al microscopio. Así, en los SMPC la presencia de mielema fue detectada en todos los casos por el DM96, que también preclasificó a los elementos blásticos cuando se hallaron presentes en el frotis. Asimismo, el DM96 detectó la existencia de plaquetas gigantes o de agregados plaquetarios cuando se visualizaron al microscopio. En las imágenes digitales correspondientes a los pacientes con SMD se pudo objetivar la presencia de signos displásicos en la serie blanca (desgranulación de los neutrófilos, cuerpos de Döhle o pseudo Pelger), serie roja (eritroblastos binucleados, puentes internucleares o intercitoplasmáticos) y serie megacariocítica (plaquetas gigantes, con seudonúcleo, desgranuladas, micromegacariocitos). Los basófilos parcial o completamente desgranulados también fueron bien preclasificados como basófilos por el analizador.

### DM96 en síndromes linfoproliferativos crónicos

Con excepción de las CLR, las células plasmáticas normales o atípicas y los blastos linfoides, el DM96 no preclasifica otras células linfoides atípicas. El citólogo clasificó en todos los casos las imágenes correspondientes a prolinfocitos, cen-



**Figura 1** Correlación entre los porcentajes de neutrófilos segmentados (Neutr) obtenidos en el CellaVision DM96 (DM96PRE) en relación con los contados en el microscopio (micro).

trocitos, centoblastos, células de Sézary, tricoleucocitos, u otros linfocitos vellosos, linfocitos binucleados, linfocitos grandes granulares y linfocitos atípicos. El analizador realizó una perfecta preclasificación de las sombras nucleares de Gumprecht, lo que permitió su rápida cuantificación.

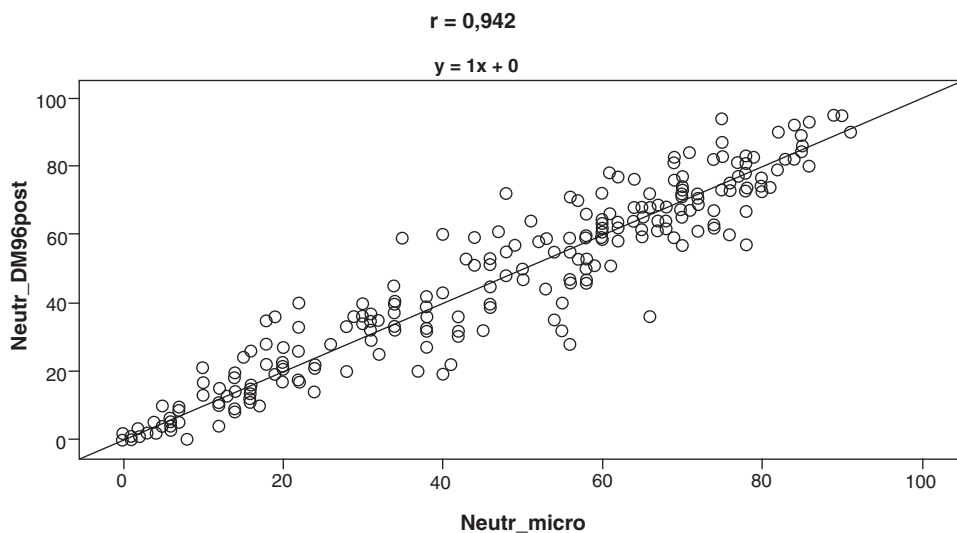
#### DM96 e inclusiones leucocitarias

Las imágenes digitales del DM96 permitieron de una forma rápida orientar el diagnóstico de una crioglobulinemia (múltiples inclusiones globulosas en el interior de los neutrófilos, linfocitos y monocitos), así como detectar eritrofagocitosis en monocitos o neutrófilos, y visualizar las astillas características de la LA promielocítica, o de granulación primaria o bastones de Auer en blastos mieloides.

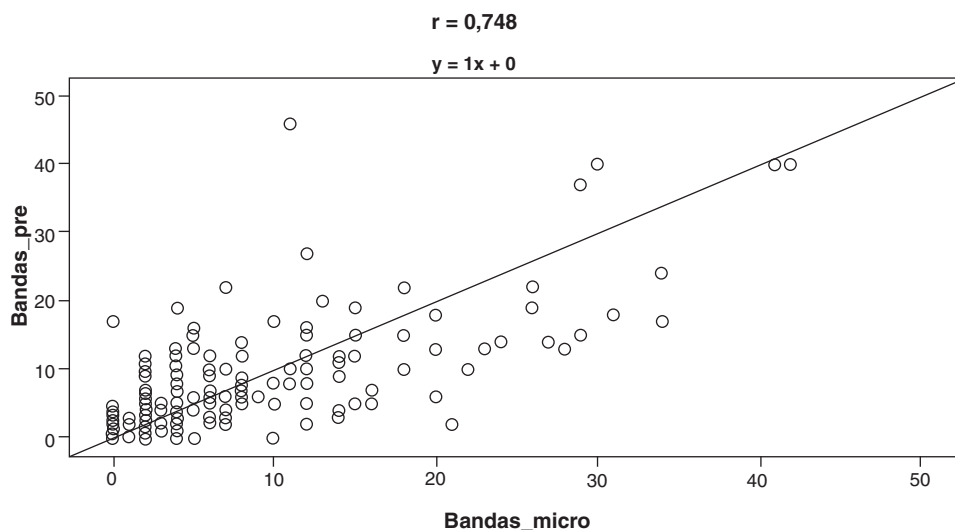
#### DM96 y alteraciones de la morfología eritrocitaria

El analizador solo fue capaz de mostrar cuatro grados de alarmas para determinadas alteraciones de la morfología eritrocitaria, tales como anisocitosis, poiquilocitosis, microcitosis, macrocitosis o policromasia. Por el contrario, el resto de las anomalías fueron informadas por el citólogo utilizando las imágenes del equipo, siendo posible tanto el desplazamiento por una zona seleccionada de la extensión como la variación de los aumentos. A resaltar la facilidad con la que se apreció la presencia de hematíes en pilas de moneda, o de formas eritrocitarias anómalas, como por ejemplo los drepanocitos.

En los casos de infecciones por parásitos intraeritrocitarios del tipo *Plasmodium vivax* (*P. vivax*), los gametocitos



**Figura 2** Correlación entre los porcentajes de neutrófilos segmentados (Neutr) obtenidos por la reclasificación realizada por el facultativo (DM96POST) en relación con los contados en el microscopio (micro).



**Figura 3** Correlación entre los porcentajes de bandas obtenidos en el CellaVision DM96 (DM96PRE) en relación con los contados en el microscopio (micro).

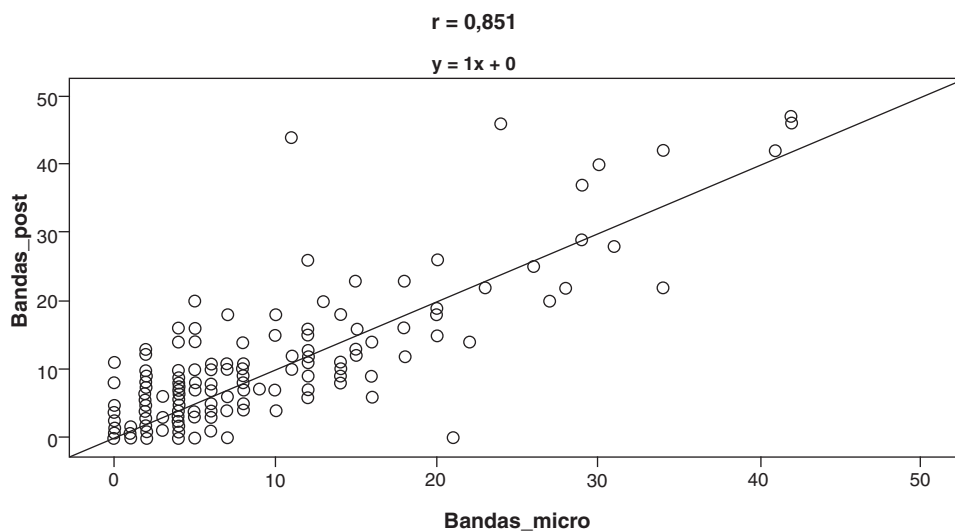
fueron clasificados como plaquetas gigantes o macrotrombocitos. Las imágenes del DM96 mostraron con claridad los hematíes parasitados por *P. vivax* o *falciparum*. Las inclusiones eritrocitarias, tales como cuerpos de Howell-Jolly, cuerpos de Pappenheimer o cristales de porfirinas, fueron fácilmente identificadas mediante las imágenes proporcionadas por el equipo.

#### DM96 y alteraciones de la morfología plaquetaria

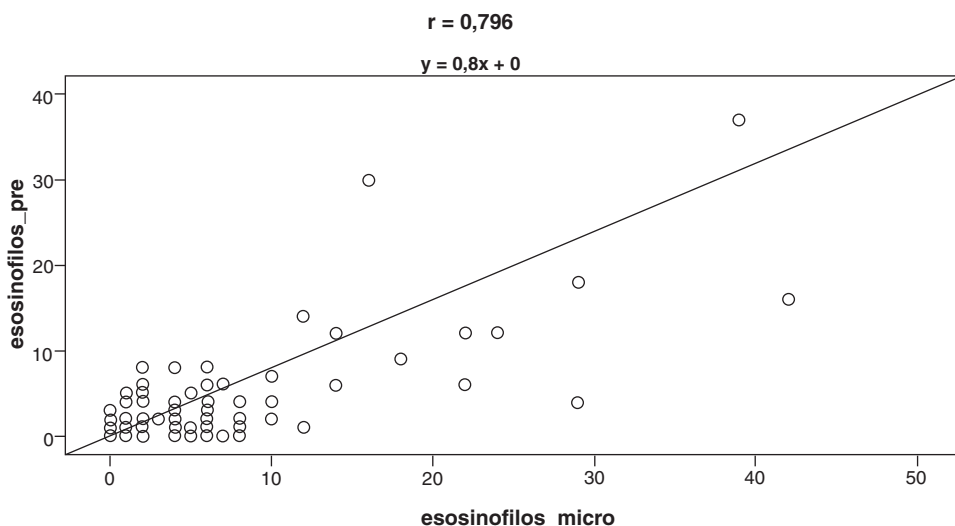
El DM96 mostró y preclasificó las imágenes de los agregados plaquetarios, así como de los macrotrombocitos y plaquetas gigantes, por lo que fue posible la detección de anomalías morfológicas en esta serie.

#### Discusión

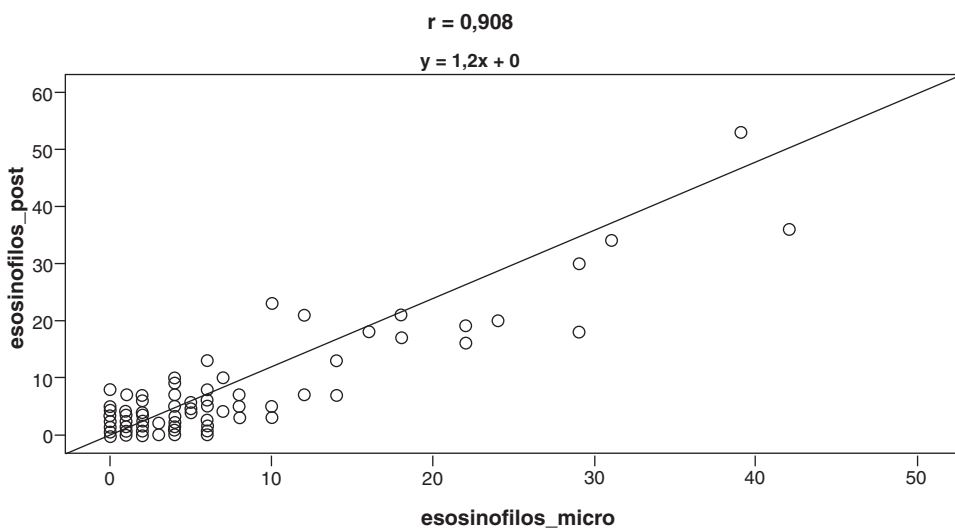
La correcta interpretación de las alteraciones morfológicas de las tres series hematopoyéticas de SP es crucial para el diagnóstico de enfermedades hematológicas y no hematológicas. En la actualidad, además del análisis citológico de las células sanguíneas, se dispone de otras metodologías, tales como la citometría de flujo o las técnicas de biología molecular y citogenética, que son fundamentales para la clasificación diagnóstica definitiva de las enfermedades hematológicas. Sin embargo, la aplicación de los métodos mencionados tiene siempre como punto de partida la SP. La automatización en el laboratorio es una meta por conseguir para todas aquellas técnicas que puedan beneficiarse de los avances tecnológicos que lo permitan.



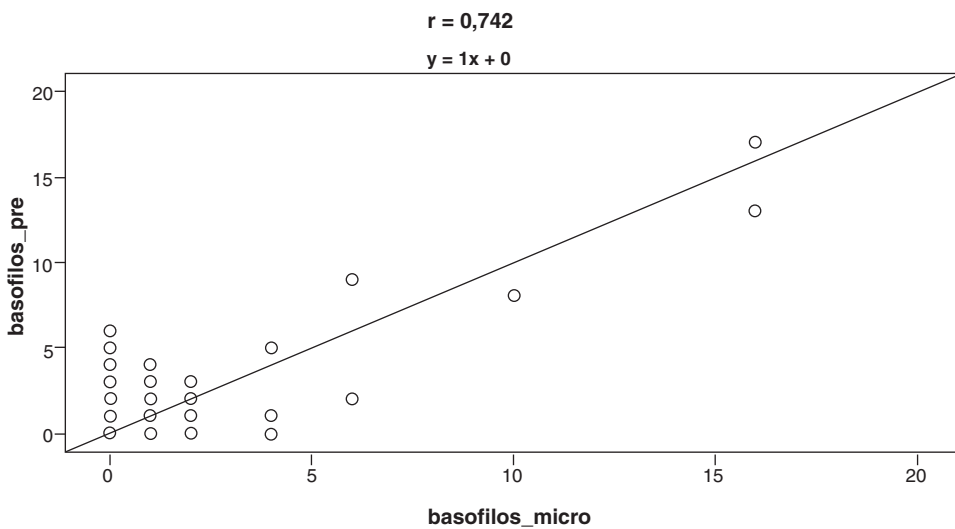
**Figura 4** Correlación entre los porcentajes de bandas obtenidos por la reclasificación realizada por el facultativo (DM96POST) en relación con los contados en el microscopio (micro).



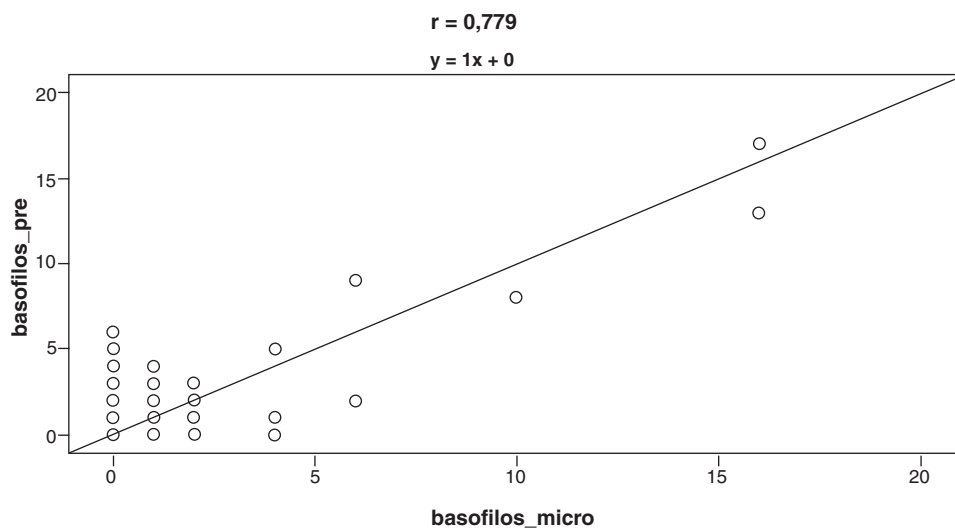
**Figura 5** Correlación entre los porcentajes de eosinófilos obtenidos en el CellaVision DM96 (DM96PRE) en relación con los contados en el microscopio (micro).



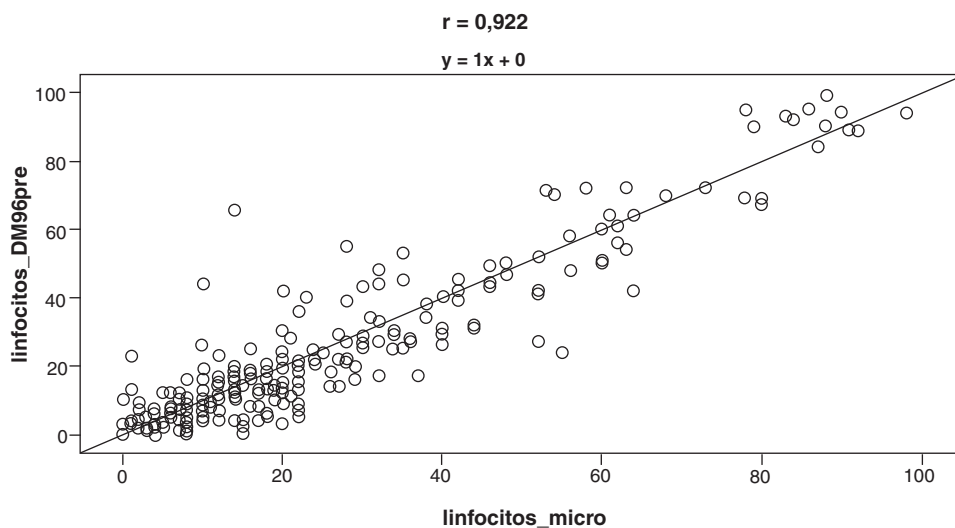
**Figura 6** Correlación entre los porcentajes de eosinófilos obtenidos por la reclasificación realizada por el facultativo (DM96POST) en relación con los contados en el microscopio (micro).



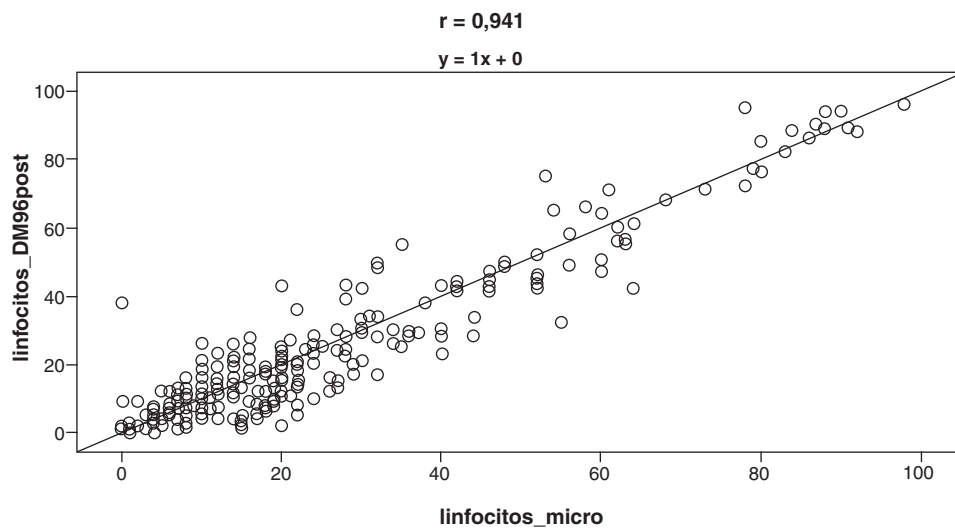
**Figura 7** Correlación entre los porcentajes de basófilos obtenidos en el CellaVision DM96 (DM96PRE) en relación con los contados en el microscopio (micro).



**Figura 8** Correlación entre los porcentajes de basófilos obtenidos por la reclasificación realizada por el facultativo (DM96POST) en relación con los contados en el microscopio (micro).

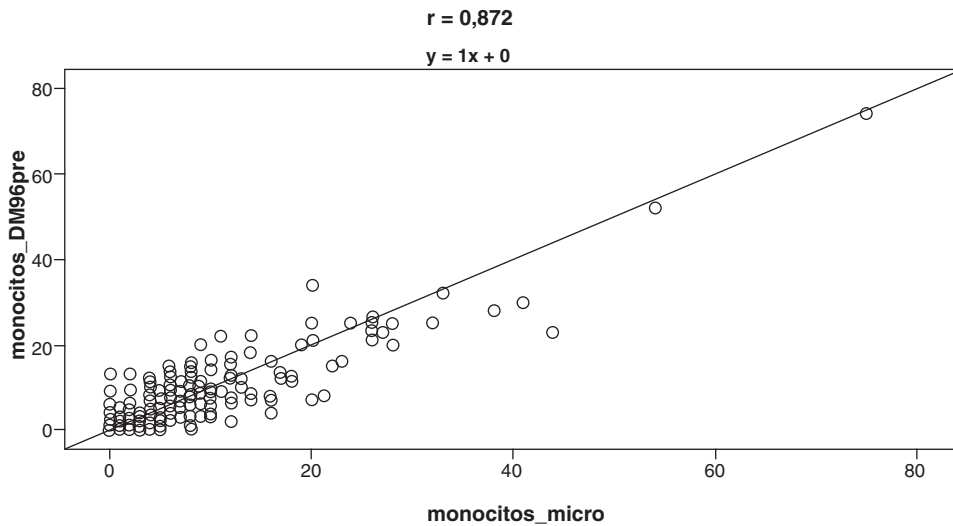


**Figura 9** Correlación entre los porcentajes de linfocitos obtenidos en el CellaVision DM96 (DM96PRE) en relación con los contados en el microscopio (micro).



**Figura 10** Correlación entre los porcentajes de linfocitos obtenidos por la reclasificación realizada por el facultativo (DM96POST) en relación con los contados en el microscopio (micro).





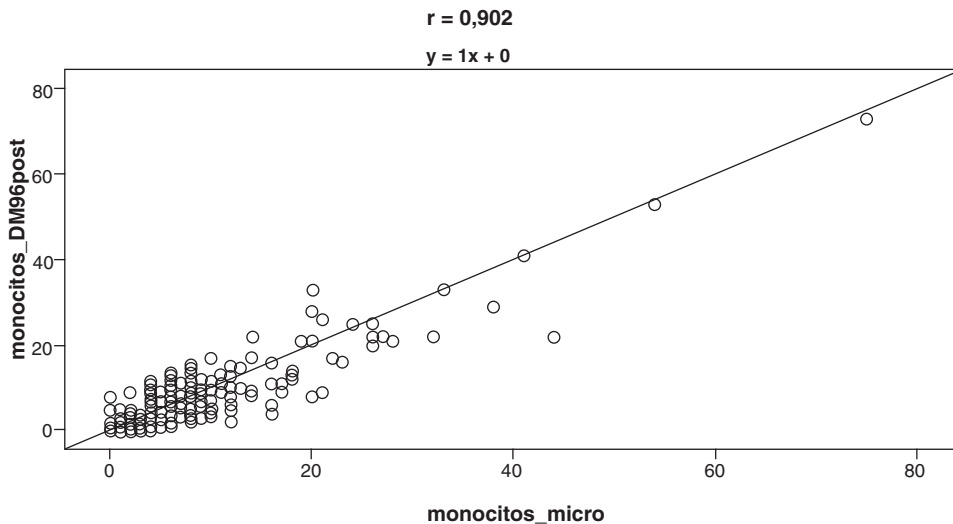
**Figura 11** Correlación entre los porcentajes de monocitos obtenidos en el CellaVision DM96 (DM96PRE) en relación con los contados en el microscopio (micro).

El DM96 es un nuevo equipo para el análisis automatizado de imágenes digitales de SP. Para ello, el analizador escanea previamente los frotis, identifica los diferentes subtipos de leucocitos, preclasifica las células mediante una red neuronal artificial (basada en características morfológicas de alrededor de 37.000 células), y las muestra en pantalla para que el facultativo las confirme o reclasifique. Para realizar la preclasificación de una célula determinada, el equipo DM96 previamente la analiza utilizando un algoritmo de segmentación<sup>11</sup>, y teniendo en cuenta cientos de cálculos a partir de más de 100 aspectos morfológicos tales como coloración, tamaño, forma y textura de las células entre otros<sup>12</sup>.

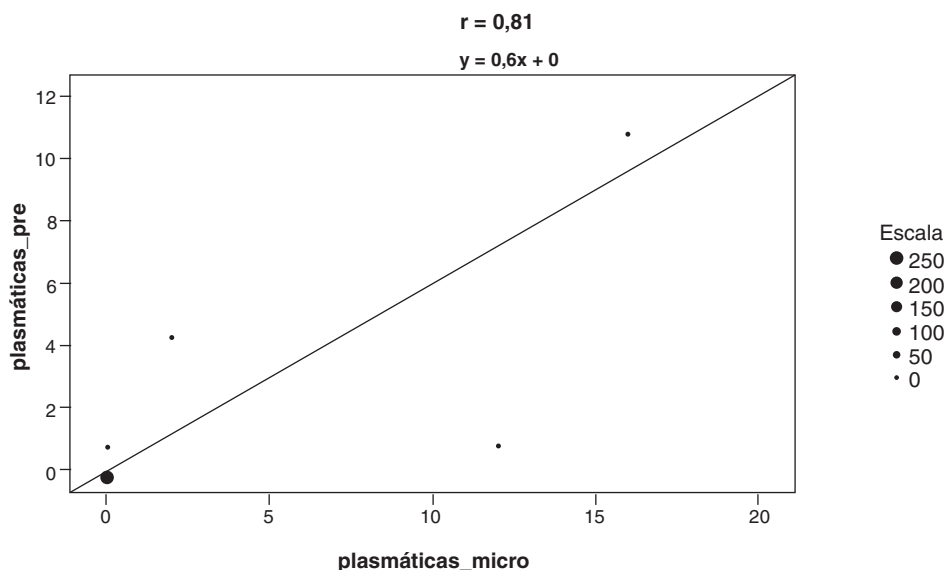
En el presente trabajo se analizan las posibles ventajas y limitaciones de la utilización del DM96 para la cuantificación diferencial de las células de SP, y nuestros resultados, de acuerdo con los obtenidos por otros

autores<sup>13-16</sup>, demuestran una muy buena concordancia de las diferentes subpoblaciones leucocitarias normales de SP preclasificadas por el analizador, en relación con las obtenidas mediante el microscopio óptico convencional.

En la publicación realizada por Cornet E et al<sup>15</sup>, los monocitos preclasificados por el DM96 presentaron una peor correlación con respecto al microscopio, lo que podría deberse a la distribución heterogénea de estos elementos en las preparaciones. Según nuestros resultados las subpoblaciones normales de SP que muestran un menor coeficiente e intervalo de confianza en la concordancia entre ambos métodos son las bandas, los eosinófilos y los basófilos. En el caso de los eosinófilos, es crucial una correcta tinción, ya que si la característica coloración anaranjada de los gránulos no es lo suficientemente intensa, serán preclasificados como neutrófilos por el DM96. Es conocida la dificultad en la reproducción de los contajes de bandas por diferentes observadores<sup>17</sup> y,



**Figura 12** Correlación entre los porcentajes de monocitos obtenidos por la reclasificación realizada por el facultativo (DM96POST) en relación con los contados en el microscopio (micro).



**Figura 13** Correlación entre los porcentajes de células plasmáticas obtenidos en el CellaVision DM96 (DM96PRE), en relación con los contados en el microscopio (micro).

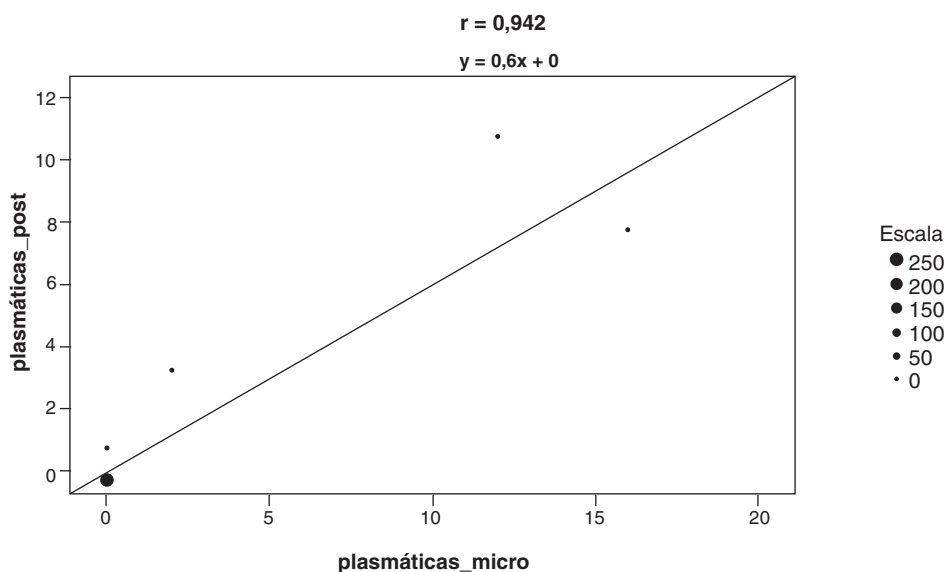
debido a ello, no es de extrañar que el intervalo de confianza de la concordancia entre ambos métodos no sea tan alto para este subtipo celular.

Con respecto a los granulocitos más inmaduros, la concordancia fue mayor para los promielocitos y mielocitos que para los metamielocitos, debido a que un porcentaje considerable de estos fueron clasificados como bandas. La menor concordancia para los eritroblastos se relacionó con el hecho de que algunas células en apoptosis, o bien determinados artefactos, fueron clasificados por el analizador en este subtipo celular.

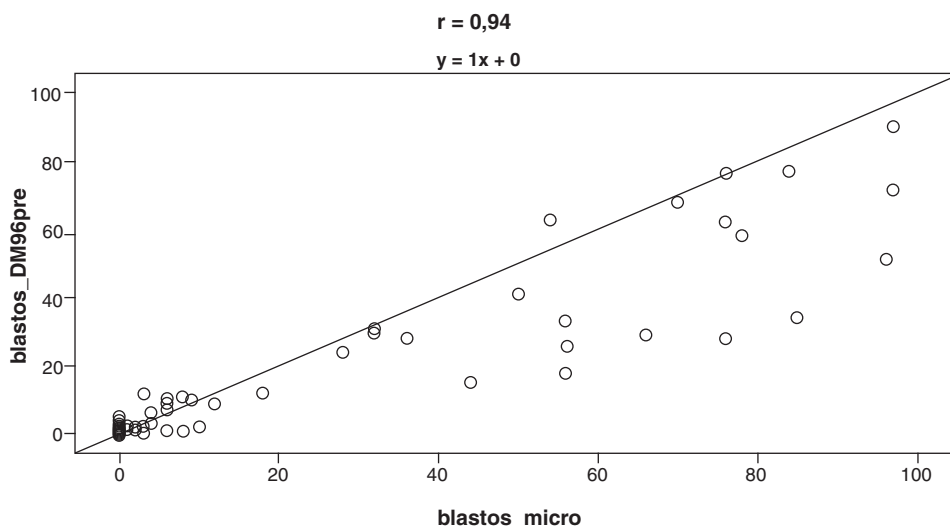
Un aspecto importante que resaltar es que el DM96 fue capaz de detectar blastos en todos los frotis de SP que los presentaron al microscopio, independientemente de su mayor o menor número en el recuento, o del

diagnóstico del paciente (LA, SMPC o SMD). No obstante, algunos de los blastos linfoides fueron preclasificados como linfocitos.

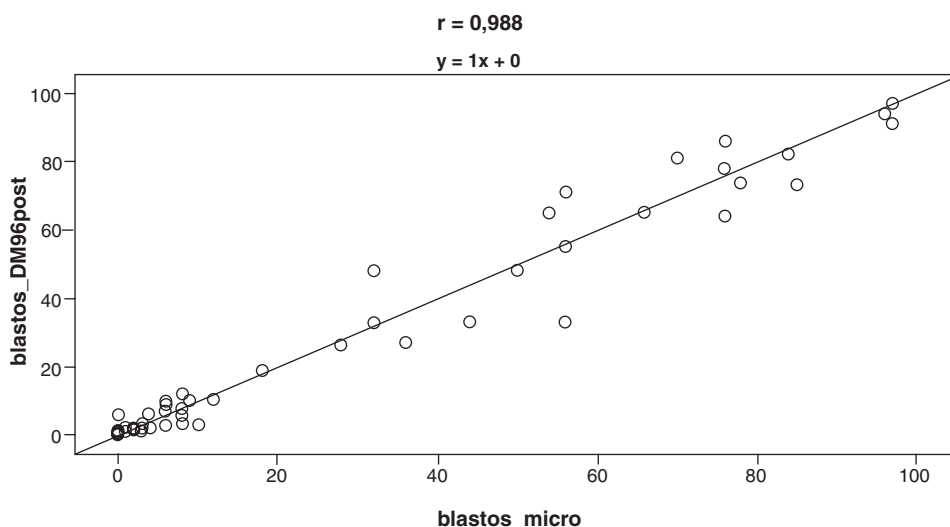
Aunque el DM96 no es capaz de clasificar la mayoría de las células linfoides atípicas, facilita la tarea al citólogo en su identificación, ya que este puede observar en la pantalla los elementos patológicos agrupados, a diferencia de lo que ocurre cuando se realiza el recuento al microscopio, con un menor número de células patológicas por campo. El equipo permite también realizar con facilidad el seguimiento de la presencia y características morfológicas de las células patológicas en un paciente determinado, así como el archivo de células anormales típicas de determinadas patologías. Ello facilita la docencia del personal en formación del laboratorio de Hematología.



**Figura 14** Correlación entre los porcentajes de células plasmáticas obtenidos por la reclasificación realizada por el facultativo (DM96POST) en relación con los contados en el microscopio (micro).



**Figura 15** Correlación entre los porcentajes de blastos obtenidos en el CellaVision DM96 (DM96PRE), en relación con los contados en el microscopio (micro).



**Figura 16** Correlación entre los porcentajes de blastos obtenidos por la reclasificación realizada por el facultativo (DM96POST) en relación con los contados en el microscopio (micro).

Asimismo, el analizador realiza el recuento porcentual de las sombras nucleares de Gumprecht, características de la leucemia linfática crónica (LLC). Una reciente publicación destaca el valor pronóstico, como valor independiente, del porcentaje de sombras nucleares de SP en la predicción de la supervivencia de los pacientes con LLC<sup>18</sup>. El interés de la determinación de este parámetro es su fácil cuantificación frente a otros factores de riesgo, tales como el estado mutacional de la cadena pesada de las inmunoglobulinas, expresión de CD38 y Zap 70, y anomalías citogenéticas<sup>19</sup>.

Por otra parte, la utilización del DM96 en el recuento diferencial de las células sanguíneas mejora el flujo de trabajo en el laboratorio, ya que reduce el tiempo necesario para su realización, especialmente en los frotis sanguíneos de pacientes con leucopenia, y mejora las condiciones

ergonómicas de los usuarios con respecto al microscopio óptico.

Algunas de las limitaciones del archivo de las extensiones de SP, tales como el espacio necesario, o el deterioro de su calidad, desaparecen con el empleo del DM96. Posibilita la revisión de las células informadas independientemente del tiempo transcurrido desde su análisis, asegurando la trazabilidad de los resultados de la muestra desde su extracción hasta su informe, y disminuyendo determinados errores preanalíticos.

Se concluye que el análisis de sangre periférica automatizado mediante el equipo CellaVision DM96 muestra una buena correlación y concordancia en relación con el método tradicional con el microscopio, requiere la validación de los resultados por un facultativo experto y representa un avance tecnológico de gran interés para los laboratorios clínicos

con un número elevado de muestras, ya que aporta numerosos beneficios tanto asistenciales como de trazabilidad, docentes, y también económicos.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

### Bibliografía

1. Merino A. *Manual de citología de sangre periférica*. Madrid: Acción Médica; 2005.
2. Woessner S, Florensa L. *La citología óptica en el diagnóstico hematológico*. FEHH. Madrid: Acción Médica; 2006.
3. Bain BJ. Diagnosis from the Blood Smear. *N Engl J Med*. 2005;353:498–507.
4. Angulo J, Flandrin G. Automated detection of working area of peripheral blood smears using mathematical morphology. *Anal Cell Pathol*. 2003;25:37–49.
5. Shitong W, Min W. A new detection algorithm (NDA) based on fuzzy cellular neural networks for white blood cell detection. *IEEE Trans Inf Technol Biomed*. 2006;10:5–10.
6. Sadeghian F, Seman Z, Ramli AR, Abdul Kahar BH, Saripan MI. A framework for white blood cell segmentation in microscopic blood images using digital image processing. *Biol Proced Online*. 2009;11:196–205.
7. Lin L. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. *Biometrics*. 1989;45:255–68.
8. Lin L. Assay validation using the concordance correlation coefficient. *Biometrics*. 1992;48:599–604.
9. Altman DG, Bland JM. Measurement in medicine: the analysis of method comparison studies. *Statistician*. 1983;32:307–17.
10. Carrasco JL, Jover LL. Métodos estadísticos para evaluar la concordancia. *Med Clin (Barc)*. 2004;122 Suppl 1:28-34.
11. Jähne B, Haussecker H, Geisser P, editores. *Handbook of Computer Vision and Applications*. San Diego, CA, EE. UU.: Academic Press; 1999.
12. Castleman KR. *Digital Image Processing*. New Jersey, USA: Prentice Hall; 1996.
13. Kratz A, Bengtsson HI, Cassey JE, Keefe JM, Beatrice GH, Grzybek H, et al. Performance evaluation of the CellaVision DM96 system. *Am J Clin Pathol*. 2005;124:770–81.
14. Ceelie H, Dinkelaar RB, Van Gelder W. Examination of peripheral blood films using automated microscopy; evaluation of Diffmaster Octavia and Cellavision DM96. *J Clin Pathol*. 2006;60:72–9.
15. Cornet E, Perol JP, Troussard X. Performance evaluation and relevance of the CellaVision DM96 system in routine analysis and in patients with malignant hematological diseases. *Int J LabHematol*. 2007;30:536–42.
16. Briggs C, Longhair I, Slavik M, Thwaite K, Mills R, Thavaraja V, et al. Can automate blood film analysis replace the manual differential? An evaluation of the CellaVision DM96 automated image analysis system. *Int J Lab Hematol*. 2007;31:48–60.
17. Vives Corrons JL, Jou JM, Aymerich M, Rozman M, Villamor N, Aguilar JL, et al. Evaluation of the Coulter MAXM, Differential leukocyte count and left shift alarm. *Sangre*. 1997;42:31–7.
18. Nowakowski GS, Hoyer JD, Shanafelt TD, Zent CS, Call TG, Bone ND, et al. Percentage of smudge cells on routine blood smear predicts survival in chronic lymphocytic leukaemia. *J Clin Oncol*. 2009;27:1844–9.
19. Shanafelt TD, Geyer SM, Kay NE. Prognosis at diagnosis: Integrating molecular biologic insights into clinical practice for patients with LLC. *Blood*. 2004;103:1002–4.