



CONTEO DE EOSINOFILOS, SU DETERMINACION POR DIFERENTES METODOS

Autores: Virginia Robleda Cabrera¹ Julio Hechavarría Figueredo²
Madelin Rodriguez Martínez³ Sandra Sotomayor Robleda ⁴

¹Especialista primer grado Laboratorio Clínico, Hospital Celia Sánchez Manduley, Granma, Cuba

²Especialista Primer grado Hematología Hospital Celia Sánchez Manduley, Granma, Cuba

³Especialista de primer y segundo grado de Medicina General Integral y primer grado de Bioquímica clínica y master en MNT y Profesor Asistente.

⁴ Estudiante de primer año de la carrera de Medicina

Universidad de Ciencias Médicas de Granma, Facultad de Medicina de Manzanillo.

Email : vrobleda@infomed.sld.cu



Resumen

Introducción: Los eosinófilos son leucocitos granulares que se forman en la médula ósea a partir de células no diferenciadas llamadas mieloblastos.

Objetivo: Determinar el método más preciso, exacto y confiable para su realización.

Método: Se realizó un estudio comparativo donde se incluyeron 50 casos a los cuales se le determinó por tres métodos diferentes el conteo de eosinófilos, se utilizó el tubo de ensayo con diferentes proporciones de la solución diluyente para las dos primeras técnicas y para la tercera por fórmula matemática, se procesaron los datos por el paquete estadístico sigma plot 11.1 y se utilizó el método de Mann Witney.

Resultado : El conteo diferencial de leucocitos por la técnica del conteo absoluto de eosinófilo fue el método más eficaz .

Conclusiones : el conteo global de eosinófilos por el primer y segundo método deja escapar las eosinofílicas ligeras, se obtuvo mayor confiabilidad en los resultados obtenidos utilizando en Conteo Absoluto de Eosinófilos, pues es el único método que tiene presente los valores obtenidos en el conteo diferencial de eosinófilos siendo este examen determinante para el diagnóstico de las eosinofílicas

Recomendaciones : el conteo diferencial de eosinófilos por lamina siempre que se indique un conteo global.

Introducción

Los eosinófilos son leucocitos granulares que se forman en la médula ósea a partir de células no diferenciadas llamadas mieloblastos, la maduración de las células de la serie mieloide se caracteriza por la producción de gránulos metacromáticos oscuros que aumentan en cantidad y más tarde son reemplazados por gránulos que difieren en su afinidad por varios colorantes, se tiñen de rojo anaranjado mediante la eosina, son células de aproximadamente 10-15 μm de diámetro y cuyo núcleo es generalmente bilobulado y su citoplasma anaranjado con tinción de hematoxilina eosina y representan el 1-4% de los leucocitos sanguíneos alrededor del 99% de los eosinófilos se encuentra en los tejidos donde llegan luego de un breve paso de aproximadamente 30 minutos por la sangre después de salir de la médula ósea.¹⁻³ En varias patologías aumenta la cifra absoluta de eosinófilos en la sangre (eosinofilia): infecciosas parasitarias, enfermedades alérgicas, neoplasias y algunos fármacos y enfermedades mieloproliferativa⁴⁻⁶



La importancia de valorar la concentración de eosinófilos en sangre para el diagnóstico y evolución de numerosas enfermedades hace necesario disponer de los valores absolutos de los mismos. Tales valores podrían obtenerse mediante cálculos a partir de las cifras de los conteos global y diferencial de leucocitos, pero por ser la fracción de eosinófilos relativamente baja los resultados son poco exactos, lo cual ha obligado a desarrollar técnicas para su recuento directo, lo cual nos motivó a la realización de este estudio para mejorar la calidad de los resultados y así ayudar a mejor diagnóstico y tratamiento de estas afecciones.

Objetivos

Determinar el método más preciso, exacto y confiable en la determinación del Conteo de Eosinófilos.

Materiales y Métodos

Se realizó un estudio comparativo donde se incluyeron 50 casos a los cuales se les realizó por tres métodos diferentes el conteo de Eosinófilos, se escogieron los casos que llegaron a los departamentos de Hematología Básica y Hematología Especial del Laboratorio Clínico del Hospital Celia Sánchez Manduley con la indicación de Conteo Global de Eosinófilos y aquellos en los que al realizar el conteo diferencial de leucocitos arrojaban una eosinofilia por encima de un 4% en su recuento.

El conteo global de eosinófilos se realizó por diferentes técnicas en la que se utilizó el tubo de ensayo con diferentes proporciones de la solución diluyente para las dos primeras técnicas y para la tercera por fórmula matemática

1. Primera técnica

- a) 1ml de la solución diluyente
 - b) 0,02 ml de sangre, utilizando para ello una pipeta de Sahli
- c) Mezclar bien y dejar reposar entre 15 min y 1h
- d) Montar en la cámara contadora de Neubauer y colocarla en cámara húmeda durante 10min
- e) Realizar el conteo en el microscopio con el ocular 10x y se cuenta en los 9 mm² de la cámara para una mayor exactitud, los eosinofilos se colorean en rojo.

Segunda técnica

2. a) 0.4 de la solución diluyente
 - b) 0,02 ml de sangre, utilizando para ello una pipeta de Sahli



- c) Mezclar bien y dejar reposar entre 15 min y 1h
- d) Montar en la cámara contadora de Neubauer y colocarla en cámara húmeda durante 10min
- e) Realizar el conteo en el microscopio con el ocular 10x y se cuenta en los 9 mm² de la cámara para una mayor exactitud, los eosinofilos se colorean en rojo

Tercera técnica

Determinación del CAE (Conteo Absoluto de Eosinofilos) Se realiza por la fórmula matemática donde se utilizan

- Conteo global de leucocitos
- unidad en %
- Conteo diferencial de leucocitos

Cálculo: para el conteo de eosinofilos

Si la dilución es 1:20 (en pipeta de Thoma) o 1:21 (en tubo de ensayo):

$$\text{Eosinófilos contados} / 9 \times 10 \times 20 = \text{Eosinófilos} / \text{mm}^3$$

$$\text{O sea, Eosinófilos contados} \times 22.2 = \text{Eosinófilos} / \text{mm}^3 (\mu\text{L})$$

$$\text{Eosinófilos} / \text{mm}^3$$

$$\text{-----} = \text{Eosinófilos} \times 10^3 / \text{mm}^3 (\mu\text{L})$$

$$1000$$

$$\text{Eosinófilos} \times 10^3 / \mu\text{L} \times 10^6 = \text{Eosinófilos} \times 10^9 / \text{L}$$

Simplificando:

$$\text{Eosinófilos contados} \times 0,022 = \text{Eosinófilos} \times 10^9 / \text{L}$$

$$\text{Si la dilución es 1:10: Eosinófilos contados} \times 0,011 = \text{Eosinófilos} \times 10^9 / \text{L}.$$

$$\text{Si la dilución es 1:51: Eosinófilos contados} \times 0,055 = \text{Eosinófilos} \times 10^9 / \text{L}.$$

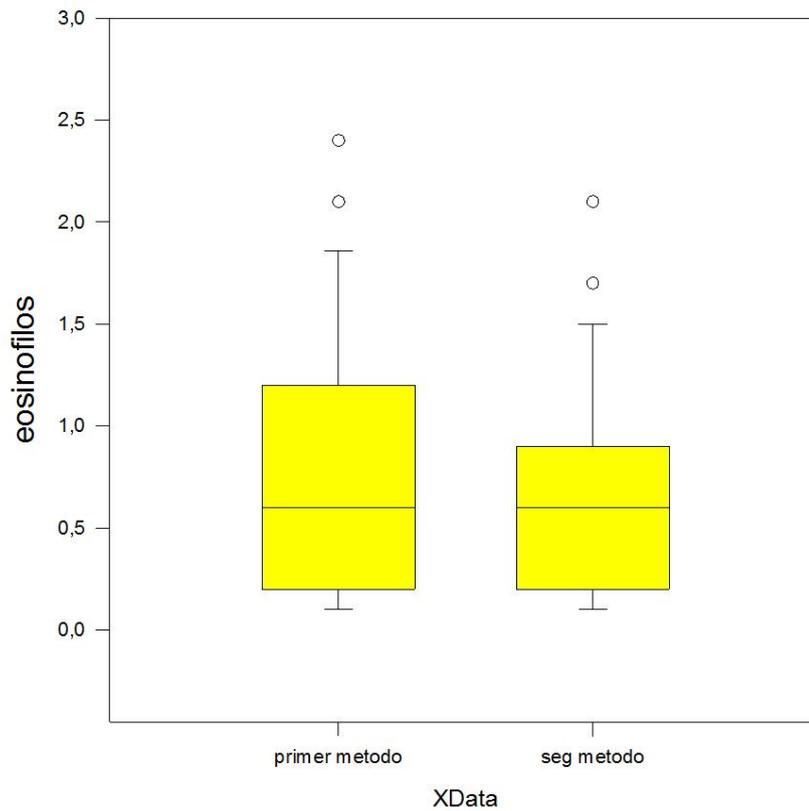
Se utilizó el paquete estadístico SIGMA PLOT 11.1 para procesar los datos.



Valores de referencia: De 0,05 a $0,5 \times 10^9$ /L.

Análisis y discusión de los resultados

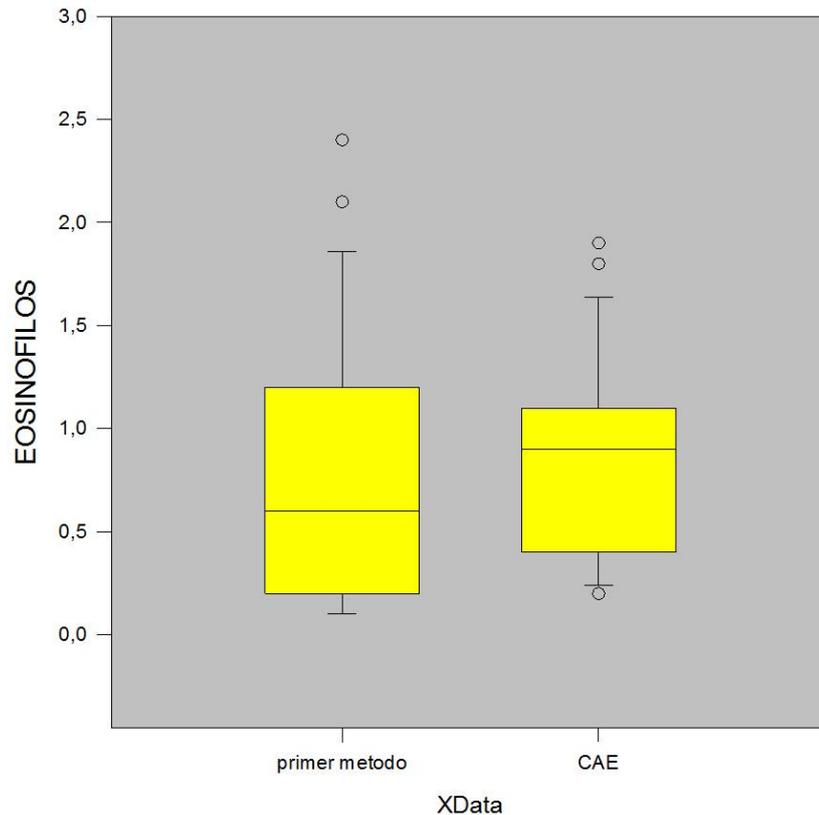
comparacion de dos metodos de conteo de eosinofilos(p=0.459)



Al observar a través de los gráficos los resultados obtenidos se compara en este grafico el primer método con el segundo método en los cuales no hay diferencias significativas en cuanto a la mediana la cual es 0.6 para ambos métodos con una ($P < 0,050$)



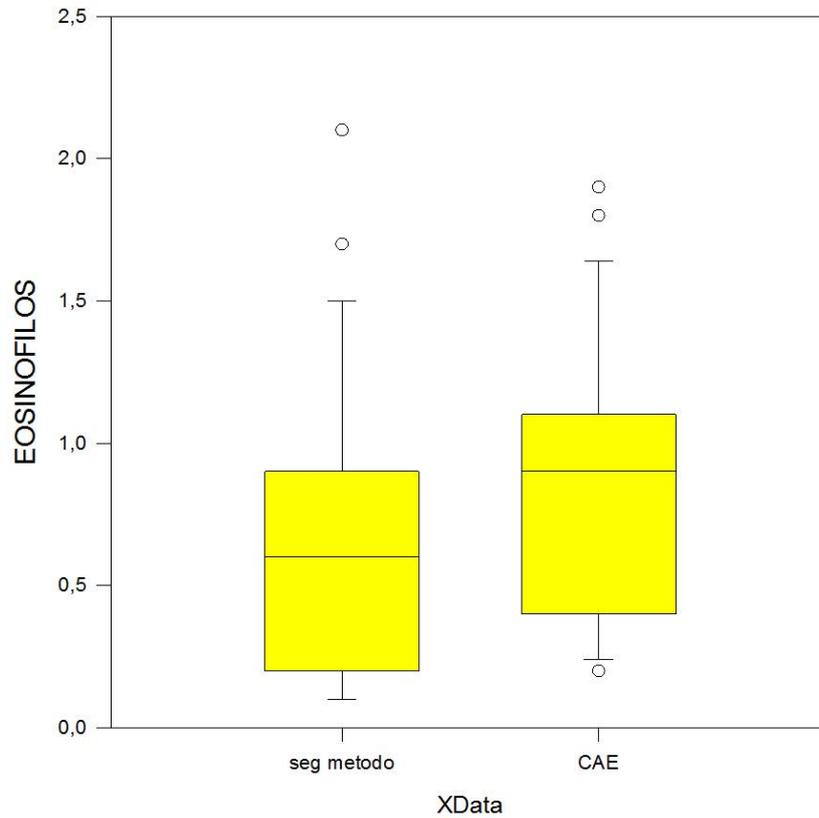
COMPARACION DE METODO 1 EN CAMARA VS CAE (CAE: POR LAMINA)



Al comparar el primer método contra el CAE Se obtiene como resultado que hay diferencias significativas en cuanto a la mediana siendo 0.6 y 0.9 respectivamente y una (P = 0,402)



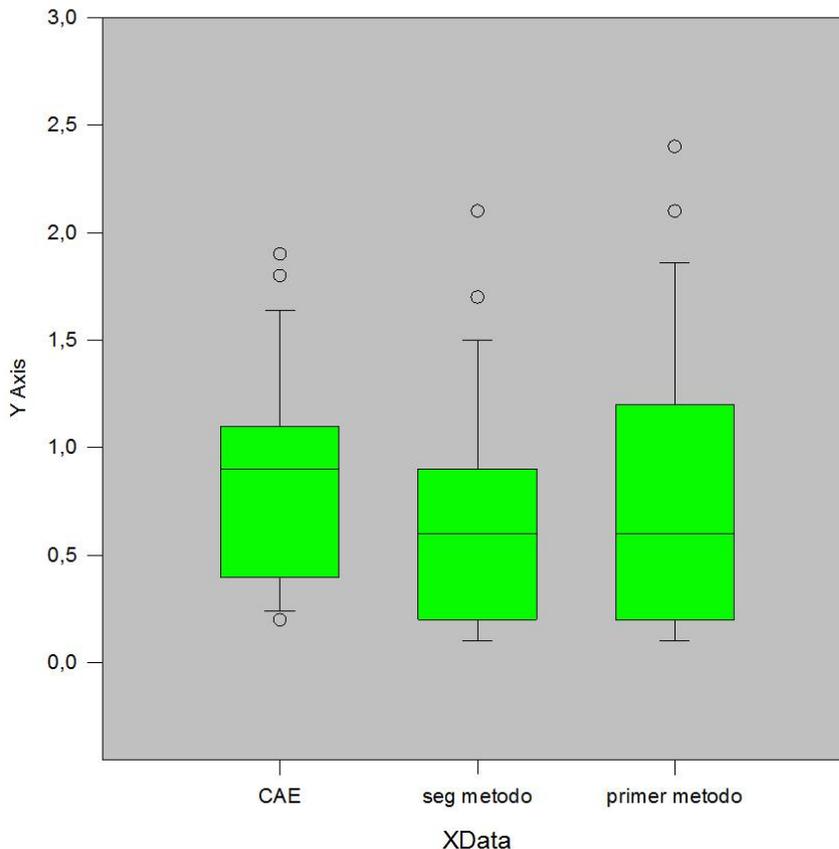
COMPARACION DE METODO 2 VS CAE (CAE:CONTEO POR LAMINA)



Al comparar el segundo método contra el CAE se obtuvieron diferencias significativas en cuanto a los valores de la mediana 0.6 y 0.9 respectivamente y una ($P = 0,085$)



Box Plot



En este grafico comparamos el primer método, segundo método y CAE, para lo cual se obtuvieron diferencias significativas en cuanto a la mediana del primer y segundo método (0.6) Y (0.85) respecto al CAE

Conclusiones

Se demostró que el conteo global de eosinófilos por el primer y segundo método deja escapar las eosinofilia ligeras, no detectándolas en el conteo.

Se obtuvo mayor confiabilidad en los resultados obtenidos utilizando en Conteo Absoluto de Eosinofilia (CAE) por fórmula matemática pues es el único método que tiene presente los valores obtenidos en el conteo diferencial de eosinófilos siendo este examen determinante para el diagnóstico de las eosinofilia pues lleva implícito la identificación morfológica del eosinofilia.

Recomendaciones



Realizar el conteo diferencial de eosinófilos por lamina siempre que se indique un conteo global del mismo para corroborar los resultados obtenidos y evitar que se escapen las eosinofilia ligeras.

Siempre que el resultado por lamina del conteo diferencial arroje eosinofilia y por el conteo global las excluya se debe de concentrar la muestra utilizando dos pipetas de sahali, para lograr mayor exactitud y multiplicar por 0,011.

Utilizar el segundo método pues la proporción de reactivo y muestra es más^o concentrada para obtener mejores resultados según lo planteado por la

Bibliografía

1. HOLGUÍN, Luisa, et al. Caracterización epidemiológica, clínica y diagnóstica de niños con gastroenteropatía eosinofílica. Estudio retrospectivo de tres instituciones de salud de alta complejidad. Revista Alergia México, 2018, vol. 65, no 2, p. 148-159. <http://dx.doi.org/10.29262/ram.v65i2.354>
2. GURBILLÓN HIRANO, Alejandro Manuel; AMBROSINI CAMPUZANO, Francesco Antonio; MEDINA PORTILLO, Leonardo Alonso. Comparación del nivel de eosinófilos en sangre periférica en pacientes con infección por Strongyloides stercoralis con o sin coinfección por HTLV-1. 2019. <http://repositorio.upch.edu.pe/handle/upch/6391> MARÍA,
3. LUZURIAGA BANDA, MELISA FERNANDA. Utilidad de la determinación de eosinófilos en exudado nasal frente a la Inmunoglobulina E (IgE) como pruebas diagnósticas de rinitis alérgica en niños que acuden al servicio de Otorrinolaringología del IESS. 2013. Tesis de Licenciatura. <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/4036>
4. MORAGON, Eva Martínez. MANEJO DE LA AGUDIZACIÓN DE ASMA: COORDINACIÓN Y SEGUIMIENTO. Revista de asma, 2020, vol. 4, no 1. <https://www.separcontenidos.es/revista3/index.php/revista/article/view/158>
5. LÓPEZ BADILLO, Claudia; MENDOZA, David; HUERTA LÓPEZ, José Guadalupe. La historia del eosinófilo, su papel fisiopatológico y manifestaciones clínicas de la eosinofilia. Alergia, Asma e Inmunología Pediátricas, 2019, vol. 27, no 3, p. 79-93. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=85264>
6. GURBILLÓN HIRANO, Alejandro Manuel; AMBROSINI CAMPUZANO, Francesco Antonio; MEDINA PORTILLO, Leonardo Alonso. Comparación



**Primer Congreso Virtual de
Ciencias Básicas Biomédicas en Granma.
Manzanillo.**



del nivel de eosinófilos en sangre periférica en pacientes con infección por *Strongyloides stercoralis* con o sin coinfección por HTLV-1. 2019.
<http://repositorio.upch.edu.pe/handle/upch/6391>