

Nuevo método eléctrico de recuento globular

(Con 4 figuras)

por

Juan Concha y José Werlinger

I. INTRODUCCION

El método convencional de recuento de los glóbulos rojos en cámaras especiales es poco exacto y por lo demás engorroso (1-2). La determinación nefelométrica del número de ellos —aunque de técnica más fácil— es inexacto (3).

Con el objeto de obviar estos inconvenientes, hemos diseñado un nuevo aparato basado en las propiedades dieléctricas del glóbulo rojo (4-5-6). La medida de la conductibilidad de la sangre es utilizada como un índice del número de corpúsculos en suspensión (7-8).

II. MATERIAL Y METODOS

a) **Descripción de la técnica.**—El funcionamiento de este aparato de recuento se basa en los cambios de la resistencia eléctrica que se producen en una columna de sangre cuando varía el número de corpúsculos (glóbulos rojos) en suspensión. El circuito eléctrico aparece en la Fig. 1. El elemento principal es una celda (R_c), cuya resistencia eléctrica está dada por la columna de sangre en ella contenida. A través de R_c circula una corriente alterna de 50 c/s. que proviene de un generador de 12 Voltios. El voltaje de salida del transformador se reduce mediante la resistencia fija R_1 (50.000 ohmios). En paralelo con la celda (R_c) se encuentra la resistencia fija R_2 que desempeña la función de resistencia etalón. Las resistencias R_c o R_2 pueden ser intercaladas en el circuito por medio del selector S_1 . Al circular la corriente por una de estas resistencias se genera una diferencia de potencial entre los puntos A y B del circuito.

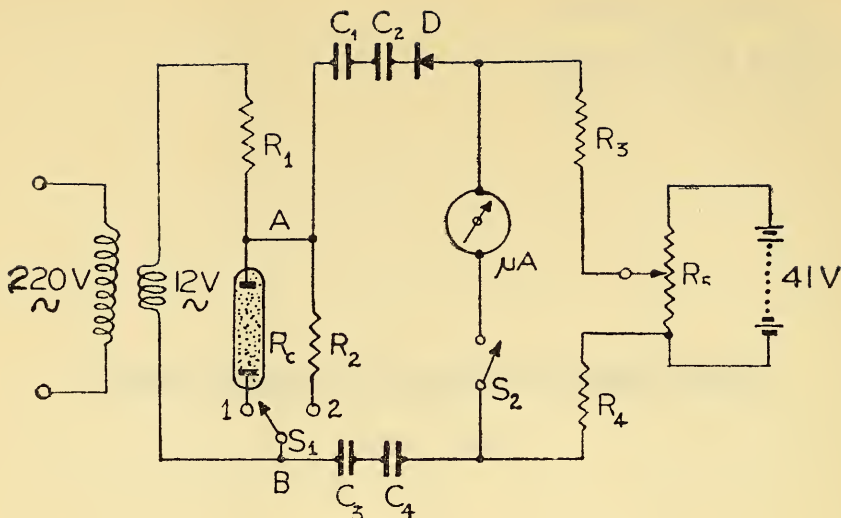


FIG. 1.—Circuito eléctrico del aparato de recuento globular basado en la conductancia de la sangre que se encuentra en la celda (R_c). Descripción en el texto.

Esta diferencia de potencial determina la circulación de una corriente a través del microamperímetro (μA) después de atravesar los condensadores de mica (C_1, C_2, C_3, C_4) y el rectificador (D). Esta diferencia de potencial determinaría un gran flujo a través del microamperímetro (μA) si no fuera por el potencial de corriente continua entregado por la batería de 41 Volts. El potencial de esta fuente de energía puede ser regulado mediante el potenciómetro R_5 a fin de ajustar el cero del microamperímetro. Las resistencias R_3 y R_4 se han colocado como seguros para proteger el instrumento contra un exceso de voltaje debido a un posible desperfecto del potenciómetro R_5 .

Los condensadores (C_1, C_2, C_3, C_4) tienen por función impedir el pasaje de la corriente continua hacia la celda (R_c). Se han colocado los condensadores en serie, con el objeto de asegurar este bloqueo.

La celda de medición está constituida (Fig. 2) por un tubo de vidrio de 75 mm. de largo por 2 mm. de diámetro interior y en cuyos extremos se encuentran los electrodos de carbón (E). La celda se halla colocada horizontalmente en un baño de agua a temperatura ambiente (aprox. $18^\circ C$) para evitar la influencia de la variación de la temperatura sobre la conductibilidad eléctrica.

Se carga la celda de medición introduciendo la sangre por uno de los orificios del tubo de vidrio. La posición horizontal de la celda evita la sedimentación de los eritrocitos y con esto la posible alteración de la conductibilidad sanguínea.

b) **Obtención de las muestras.**—Se practicaron mediciones en 95 muestras de sangre (5 a 10 cc. cada una), extraídas por

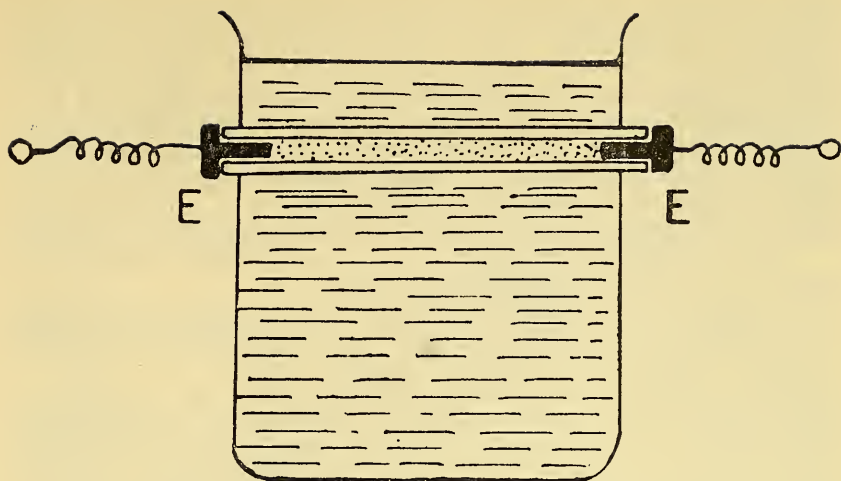


FIG. 2.—Celda para el recuento eléctrico. E = electrodos de carbón en ambos extremos de la celda de medición (Rc), que se encuentra sumergida en un caso con agua a temperatura ambiente.

punción venosa de individuos de ambos sexos, internados en el Servicio de Medicina del Hospital Clínico Regional de Concepción *. Como anticoagulante se utilizó la mezcla de Wintrobe. Del total de las muestras de sangre, 37 fueron empleadas en la preparación de muestras de sangre más diluídas o más concentradas (menor o mayor número de eritrocitos) que las normales, a fin de poder realizar mediciones con números extremos de eritrocitos. El resto de las muestras no fué modificado.

Con estas muestras se hicieron:

i) **Recuento de eritrocitos.**—Para ello se utilizó una cámara cuenta-glóbulos Levy-Neubauer con doble retículo; pipeta de dilución del tipo Thoma. El líquido de dilución empleado fué la solución de Hayem. En la mayor parte de las muestras se diluyó al 1:200 y sólo en sangres muy diluídas se empleó la proporción de 1:100.

En cada una de las primeras 60 muestras se practicaron 8 recuentos independientes; en el resto sólo cuatro recuentos por muestra. Cada vez se contaron los glóbulos rojos contenidos en 80 cuadrados de la cámara de recuento.

ii) **Medición de la conductibilidad.**—Se introdujo en la celda de medición (Rc) una solución de NaCl al 0.85% y mediante el potenciómetro R_5 (Fig. 1) se ajustó la aguja del microamperímetro (μA) a cero. Se cambió en seguida el selector S_1 de la posición 1 a la 2 y se hizo la lectura correspondiente al etalón R_2 . Esta precaución fué necesaria para evitar los errores

* Agradecemos al Profesor Ivar Hermansen, Jefe del Servicio de Medicina, las facilidades dadas para utilizar el material clínico necesario para este trabajo.

debidos a las variaciones de voltaje en el generador de corriente alterna conectado a la red de la calle. Se extrajo la solución de NaCl de la celda y se procedió a colocar en ella la muestra de sangre. Se conectó el selector S_1 con la celda (posición 1) y se practicó la lectura correspondiente en el instrumento, después de esperar algunos segundos, con el objeto de obtener la estabilización del microamperímetro. Esta lectura es un índice del aumento de la resistencia producida en el interior de la celda al reemplazar la solución de 0.85% de NaCl por la sangre.

Una precaución importante es la eliminación total de las burbujas de aire del interior de la celda.

Después de centrifugar el resto de la muestra y de obtener así el plasma, se procedió a medir la conductibilidad de éste en la misma forma que se hizo con la sangre total.

Con el objeto de poder apreciar el grado de variabilidad del método se controlaron muestras de sangre (6 cc. cada una) proveniente de diferentes individuos, y con cada una de estas muestras se practicaron seis mediciones independientes de la conductibilidad sanguínea utilizando cada vez alrededor de 1 cc.

III. RESULTADOS EXPERIMENTALES

En las Figs. 3 y 4 se encuentran representados los valores obtenidos con el método de recuento en cámara (ordenadas),

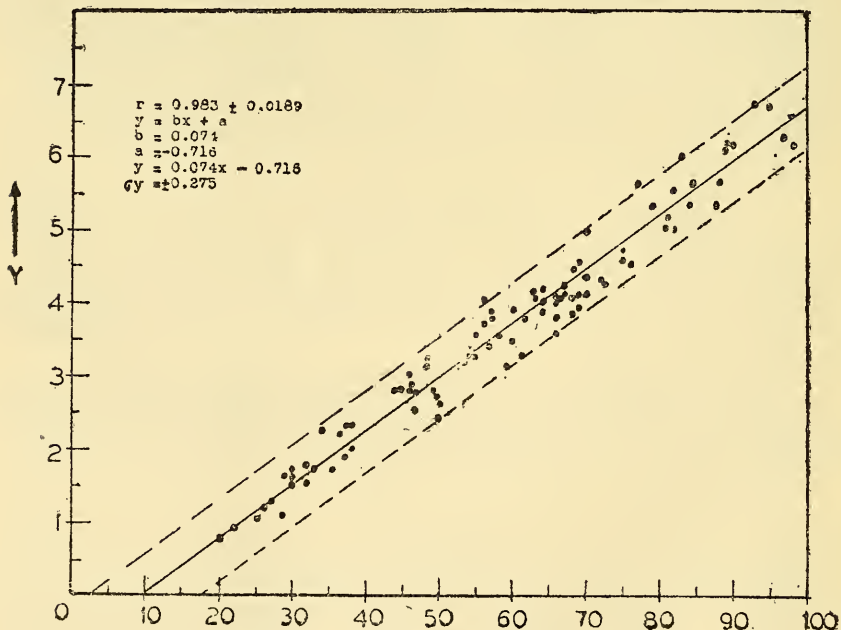


FIG. 3.—Representación gráfica de los valores encontrados con el método de recuento en cámaras (y) en relación con la lectura del instrumento del método eléctrico (x). Ordenadas: millones de glóbulos rojos por mm^3 . Abscisas: lectura del instrumento en unidades. Etalón: Solución de NaCl al 0.85%.

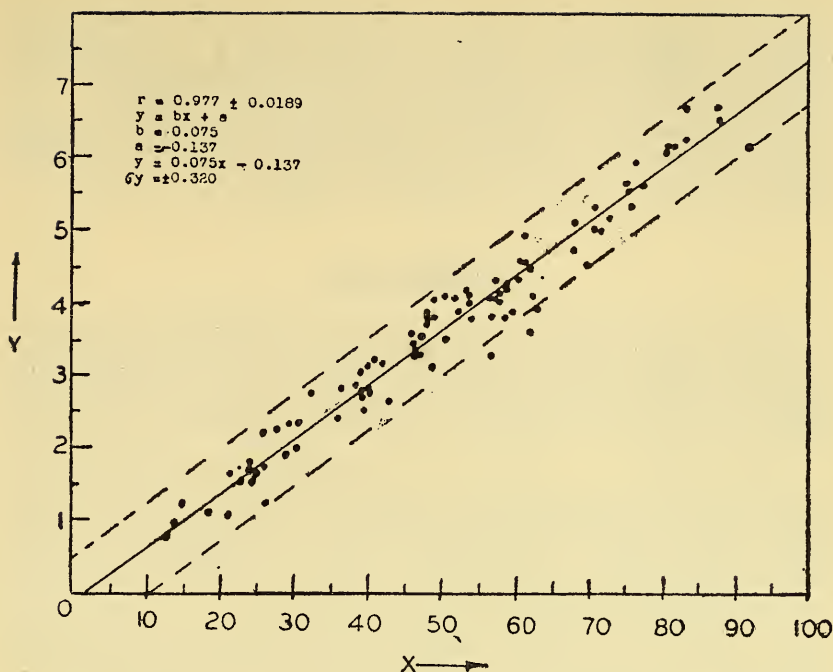


FIG. 4.—Recuento globular en cámara (y) en relación con los valores obtenidos por el método de la conductancia eléctrica de la sangre (x). Etalón: Plasma.

en relación con la lectura del instrumento del aparato de recuento eléctrico (abscisas). Según los cálculos estadísticos*, el coeficiente de correlación lineal "r" es de 0.983 con una desviación standard de ± 0.0189 . La ecuación lineal que relaciona el recuento eritrocítico (y) con la lectura del instrumento (x) es $y = 0.074x - 0.716$ (millones de glóbulos por mm^3). Esta fórmula es válida cuando la conductibilidad de la sangre se compara con un etalón de ClNa al 0.85%. La desviación standard del recuento (σy) según la lectura del instrumento es de ± 0.275 . En la Fig. 3 se ha representado además el doble de este último valor* (líneas de trazo discontinuo) a ambos lados de la línea dada por la fórmula antes mencionada (línea de trazo continuo).

En la Fig. 4 se relaciona el recuento en cámara (y) con la lectura del instrumento (x), cuando se compara la conductibilidad de la sangre con la del plasma. En este caso tenemos un coeficiente de correlación lineal "r" de 0.977, con una desviación standard de ± 0.0189 . La ecuación que relaciona el recuento globular con la lectura del instrumento es $y = 0.075x - 0.137$

* Agradecemos al Dr. George Hodgson su valiosa colaboración en el estudio estadístico.

* El doble de la desviación standard —a ambos lados de los valores promedios— incluye el 95.5% de los casos individuales entre estos límites.

(millones de glóbulos por mm^3). La desviación standard del recuento en cámara (σ_y) es en este caso igual a ± 0.320 . En la Fig. 4 aparecen representadas también dos desviaciones standard a cada lado de la línea central dada por la fórmula.

El control de la variabilidad del método eléctrico —realizado en 72 determinaciones— dió un coeficiente de variación medio de 1.93% con una desviación standard de ± 0.3 .

IV. DISCUSION

Se ha demostrado que el coeficiente de variación del método convencional de recuento de glóbulos rojos en cámara es de $\pm 8\%$, cifra que indica que no tienen significado diferencias menores a un 16% entre dos recuentos hechos en un mismo individuo (1-2).

Las diferencias existentes entre el número de glóbulos rojos calculados según la fórmula ($y = bx - a$) y el recuento hecho en cámara (ver Figs. 3 y 4) carecen de significado estadístico, pues con toda probabilidad se deben a la dispersión inherente a este último método.

La variabilidad de los valores obtenidos con el método de conductibilidad eléctrica es mucho menor que la de los recuentos en cámara. El método eléctrico tiene en promedio un coeficiente de variación de 1.93% lo que significa que diferencias mayores de 3.86% se deben seguramente a variaciones reales del recuento de glóbulos rojos.

Recientemente **Schwan** (13) ha realizado un detenido estudio teórico sobre la variabilidad del recuento de glóbulos rojos en cámara, en comparación con los resultados obtenidos con el método de la conductibilidad eléctrica de la sangre. Este autor establece que existe una gran superioridad de este último procedimiento sobre los métodos convencionales.

El método eléctrico descrito en este trabajo —a diferencia de otro desarrollado por **Hirsch** y col. (7-8)— es mucho más sencillo. El aparato utilizado por nosotros es de fácil construcción, de bajo costo, de manejo simple y de precisión semejante.

El método de **Hirsch** y col. (7-8) ha sido probado en diversos tipos de anemia —tanto microcíticas como macrocíticas— y se ha demostrado que es preciso también en estos casos. Sería conveniente ensayar en el futuro el nuevo método en las alteraciones sanguíneas antes mencionadas y en otras afecciones hematológicas. Es muy probable que este nuevo método servirá también en estos casos; pues se ha demostrado que la resistencia de una suspensión de eritrocitos es independiente del tamaño de los corpúsculos (10-11). Además parece existir una influencia de la forma de los eritrocitos sobre las propiedades conductoras de la sangre (12); por lo tanto sería conveniente realizar estudios comparativos en las anemias esferocíticas y falciformes.

En las Figs. 3 y 4 se puede apreciar que los valores individuales aparecen más homogéneamente agrupados alrededor

de la línea de regresión cuando se compara la conductibilidad de la sangre con una solución de ClNa al 0.85%. En este caso la desviación standard es menor que cuando se utiliza el plasma como etalón de comparación. Este resultado —aparentemente paradójal— se puede explicar si tomamos en cuenta que cuando se compara la sangre con el plasma respectivo, hacemos intervenir un nuevo factor de variación que es el plasma mismo.

V. RESUMEN

1.—Se construye un nuevo aparato para el recuento de los glóbulos rojos basado en la influencia que tiene el número de eritrocitos sobre la conductibilidad eléctrica de la sangre.

2.—Se efectúa el estudio en 95 casos, practicando en total 620 recuentos en cámara y las correspondientes mediciones de la conductibilidad eléctrica.

3.—Entre ambos métodos de recuento se obtuvo un coeficiente de correlación "r" de 0.983. La relación entre el recuento globular en cámara y la lectura del instrumento fué: $y = 0.074x - 0.716$ (millones de glóbulos rojos por mm^3), siendo la desviación standard de ± 0.275 (millones de glóbulos rojos por mm^3). Como etalón de comparación se utilizó en este caso una solución de NaCl al 0.85%.

Al comparar la conductibilidad de la sangre con respecto a su propio plasma se obtuvo un coeficiente de correlación "r" de 0.977. La relación entre el recuento y la determinación del instrumento fué: $y = 0.075x - 0.137$ (millones de glóbulos rojos por mm^3), con una desviación standard de ± 0.320 (millones de glóbulos rojos por mm^3).

4.—El coeficiente de variación del método eléctrico en estudio fué de $1.93 \pm 0.3\%$ en comparación con el coeficiente de variación de $\pm 8\%$ que se obtiene en los recuentos de los eritrocitos en cámaras especiales.

5.—Se discuten las ventajas y las limitaciones de los métodos de recuento eléctrico.

SUMMARY

1.—A practical electric method for counting red cells is described. This method is based on the measurement of the resistance to alternating current of a column of blood.

2.—The electric circuit of the apparatus used is shown in Fig. 1.

3.—There is a linear correlation between the instrument readings and the red cell counts made in Levy counting chambers ($r = 0.983$) Fig. 3, 4.

4.—The study of reproducibility of the electric method gave a coefficient of variation of $1.93 \pm 0.3\%$. This compares very favourably with the coefficient of variation of the hemacytometer method (8%).

ZUSAMMENFASSUNG

1.—Auf Grund des Wechselstromwiderstandes des Blutes wird eine neue vereinfachte Methodik beschrieben, die es erlaubt die Erythrocytenzahl zu bestimmen.

2.—Die elektrische Schaltung des Apparates ist in Figur 1 dargestellt.

3.—Eine lineare Korrelation ($r = 0.983$) existiert zwischen den am Instrument abgelesenen Werten und der Blutkörperchenzählung mittels Zählkammer (Fig. 3 und 4).

4.—Der Variationskoeffizient der elektrischen Methode ist nur $1.93 \pm 0.3\%$ im Vergleich mit der Zählkammer-Methode, welche einen Variationskoeffizienten von 8% hat.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—BERKSON, J., MAGATH, T. B., and HURN, M.—*Am. J. Physiol.*, 123, 309, 1940.
- 2.—BERKSON, J.—*Blood Cell Count: Error*. En Glasser, O.: (Edit) *Medical Physics. Year Book Publ. Inc., Chicago, 1: 110, 1944.*
- 3.—PONDER, E.—*Am. J. Physiol.*, 134, 739, 1941.
- 4.—OKER-BLOM, M.—*Pflüger's Arch. ges. Physiol.*, 79, 111, 1900.
- 5.—HÖBER, R.—*Pflüger's Arch. ges. Physiol.*, 133, 237, 1910.
- 6.—FRICKE, H., and S. MORSE.—*J. Gen Physiol.*, 9, 153, 1925.
- 7.—HIRSCH, F. G., TEXTER, E. C., Jr., WOOD, L. A., BALLARD, W. C., Jr., HORAN, F. E. and WRIGHT, I. S.—*Blood.*, 5, 1017, 1950.
- 8.—TEXTER, F. C., Jr., HIRSCH, F. G., HORAN, F. E., WOOD, L. A., BALLARD, W. C., Jr. and WRIGHT.—*Blood.*, 5, 1036, 1950.
- 9.—DAVENPORT, C. B. and M. P. EKAS.—*Statistical Methods in Biology, Medicine and Psychology. Fourth Edition. John Wiley and Sons, Inc. New York. 1936.*
- 10.—OKER-BLOM, M.—*Pflüger's Arch. ges. Physiol.*, 79, 510, 1900.
- 11.—FRICKE, H.—*J. Gen Physiol.*, 6, 375, 1924.
- 12.—PONDER, E.—*J. Physiol.*, 85, 439, 1935.
- 13.—SCHWAN, H.—*Pflüger's Arch. ges. Physiol.*, 251, 550, 1949.