



HOSPITAL DE CLÍNICAS  
Dr. Manuel Quintela



UNIVERSIDAD  
DE LA REPÚBLICA  
URUGUAY

# Correlación del diagnóstico por citometría de flujo con el histológico en Linfomas No Hodgkin B

En pacientes del Hospital de Clínicas diagnosticados entre marzo 2020 y marzo 2022

Ciclo de Metodología Científica II - 2022  
Grupo de trabajo: 27

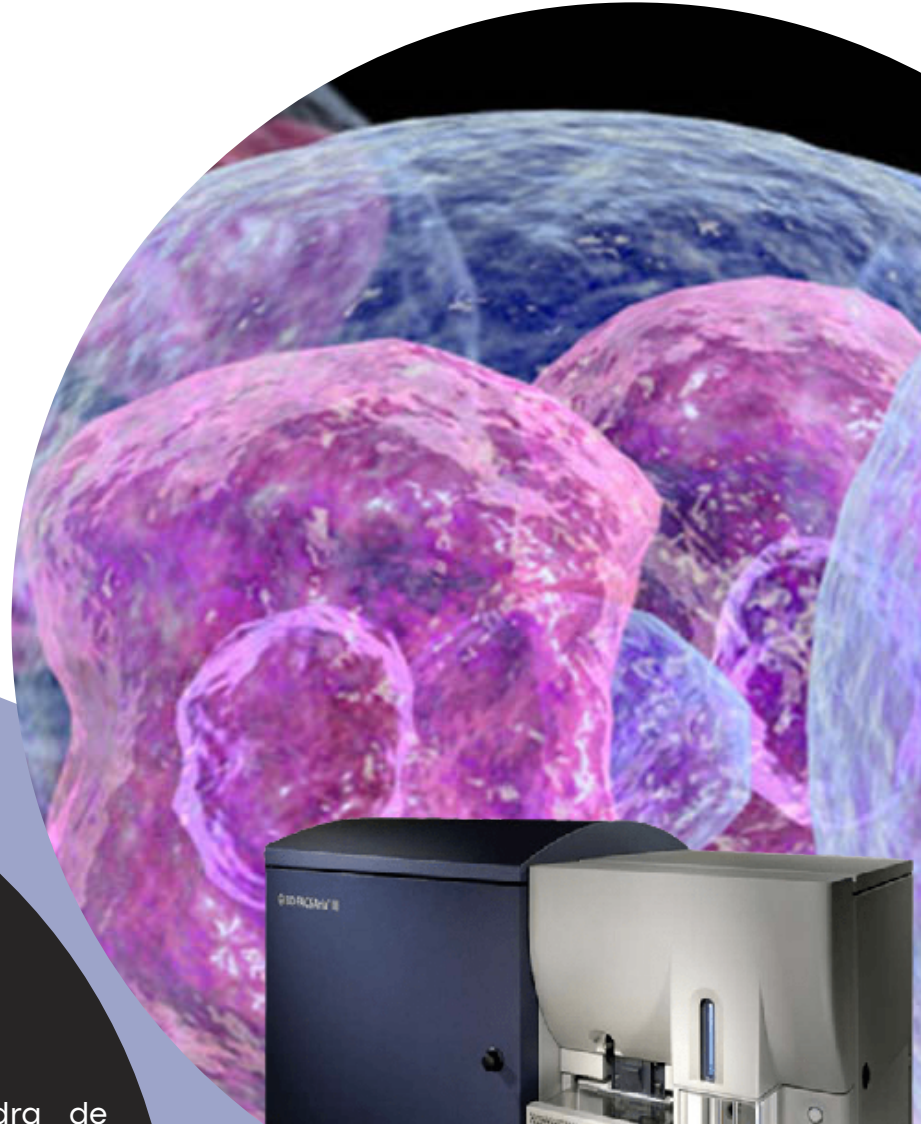
## Investigadores

Br. Maria Eugenia Arrospide  
Br. Ruben Ballesteros  
Br. Cecilia Caballero  
Br. Franco Caraballo  
Br. Mauricio Dominguez  
Br. Joaquin Garaza

## Orientadoras

Prof. Agda. Dra. Sofia Grille (Cátedra de Hematología y Depto. Básico de Medicina-Hospital de Clínicas- Facultad de Medicina-UdelaR, Montevideo, Uruguay).

Prof. Dra. Daniela Lens (Depto. Básico de Medicina-Hospital de Clínicas- Facultad de Medicina-UdelaR, Montevideo, Uruguay).



## Índice de contenidos

Resumen.....	3
Introducción .....	5
Objetivo general y objetivos específicos.....	11
Metodología .....	12
Resultados .....	14
Discusión y conclusiones .....	22
Referencias.....	25
Agradecimientos .....	27
Anexo .....	28

## Índice de figuras

Ilustración 1. Métodos de obtención de la muestra .....	14
Ilustración 2. Localización anatómica de extracción de la muestra.....	15
Ilustración 3. Comparación de la calidad de la muestra en función del método de extracción para la citometría de flujo .....	18
Ilustración 4. Comparación de la calidad de la muestra en función de la localización de la muestra. ....	18

## Resumen

Los Linfomas no-Hodgkin (LNH) constituyen la neoplasia hematológica más frecuente y los LNH-B representan el 80% de los mismos.

El Gold Standard para el diagnóstico de LNH es la anatomía patológica. Sin embargo, tiene como desventaja los largos tiempos de espera (aproximadamente 1 mes). Por otro lado, la citometría de flujo permite analizar en forma multiparamétrica proteínas u otras moléculas; brindando así información rápida, en 48 horas o menos. La citometría de flujo constituye una técnica rápida, objetiva y altamente sensible, de gran utilidad en LNH.

El objetivo de esta monografía fue conocer el valor diagnóstico de la citometría en los LNH-B en ganglios u otros tejidos en nuestro país. Poder validar la citometría para el diagnóstico de LNH-B, y en particular en muestras raramente utilizadas en citometría, podría llevar a un cambio en el algoritmo diagnóstico de los pacientes con LNH. Esto llevaría a reducir los tiempos diagnósticos y permitir instaurar un tratamiento precoz.

Estudiamos 184 muestras de pacientes con diagnóstico presuntivo de LNH. 95 fueron biopsias exéresis, 72 biopsias por aguja gruesa, 5 punción y aspiración por aguja fina y 4 otras. En cuanto a la localización de las muestras extraídas 102 corresponden a adenopatías, 21 a biopsias digestivas, 16 óseas, 7 hepáticas y 35 a otras localizaciones.

En cuanto al valor diagnóstico de la citometría, observamos una elevada especificidad (> 90%) y valor predictivo positivo (> 85%), con una sensibilidad moderada (60%).

En conclusión, en este trabajo pudimos confirmar que el inmunofenotipo en muestra ganglionar o de tumor es un método diagnóstico muy rápido, que presenta una elevada especificidad, incluso en biopsias de mala calidad, lo cual permite adelantar los tiempos diagnósticos pese a que su sensibilidad no sea tan elevada.

**Palabras clave:** Linfoma no Hodgkin, Citometría de flujo, Anatomopatología, Diagnóstico.

## **Abstract**

Non Hodgkin lymphomas (NHL) are the most frequent hematological neoplasms. B-cell NHL represents the 80% of all lymphomas.

The gold standard for the diagnosis of NHL is histopathology. Nevertheless, pathology waiting times in Uruguay are about one month. Flow cytometry is a very rapid, objective and highly sensitive technique that can make a diagnosis in less than 48 hours. Flow cytometry has proved to be very useful in chronic lymphoproliferative syndromes.

The aim of this work was to study the value of flow cytometry in mature B-NHL diagnosis. This may be of great usefulness to improve the diagnosis algorithm in chronic lymphoproliferative syndromes. Furthermore, this would benefit patients, as it would decrease diagnosis times, allowing earlier treatment.

Retrospectively, we studied 184 samples from patients with suspected NHL and sent to the flow cytometry laboratory for diagnosis. Among them, 95 were excisional biopsy, 72 were core needle aspiration, 5 fine needle aspiration biopsy and in 9 cases no data was available. In 102 out of 184 cases, samples obtained were lymph nodes, 21 were gastrointestinal biopsies, 16 bone biopsies, 7 hepatic and 35 from other sites.

High positive predictive values (over 90%) and specificity were found, meanwhile low sensitivity and negative predictive values (60%) were observed.

Excisional biopsy and core needle biopsy were the most frequent types of samples studied. As expected, sample quality was significantly poorer in core needle than in excisional biopsies. However, negative predictive values and sensitivity were superior in core needle than in excisional biopsies. In both cases specificity was over 90%.

In conclusion, flow cytometry was a rapid and objective diagnostic method for B-NHL when lymph nodes and mass tissue samples were used. A high specificity, even in bad quality biopsies was found, improving the diagnostic times and the possibility of early treatment when a positive diagnosis is obtained by flow cytometry.

**Keywords:** Non Hodgkin lymphoma (NHL), flow cytometry, histopathology, diagnosis.

## Introducción

Los Linfomas no-Hodgkin (LNH) constituyen un grupo heterogéneo de neoplasias hematológicas adquiridas originadas por la proliferación clonal de linfocitos B, T o Natural Killer (NK) maduros, derivados de sus homólogos normales, que proliferan en los tejidos linfoides pudiendo diseminarse a otros órganos extranodales y extenderse a la sangre periférica[1]

La Organización Mundial de la Salud (OMS) establece un sistema de clasificación de neoplasias de tejidos hematopoyéticos y linfoides, basado en la morfología, inmunofenotipo, aberraciones genéticas y moleculares y características clínicas de los mismos[2].

### Epidemiología de los LNH

Los LNH constituyen la neoplasia hematológica más frecuente. Según datos estadísticos de la SEER (Surveillance Epidemiology and End Results) en 2019 la incidencia de LNH en general alcanza 18.3/100.000 habitantes por año y una supervivencia a 5 años de 73.8%[3]. Según el “*Global Cancer Observatory*” (GCO) el número de casos nuevos detectados de LNH en el 2020 en ambos sexos, para todas las edades y a nivel global fue de 544.352 (5.8% de incidencia), ocupando así el puesto número 11 de los cánceres más prevalentes. También ocupó el puesto número 11 en causas de decesos por cáncer (2.6% de mortalidad)[4].

En nuestro país y según las mismas fuentes, el LNH presenta una incidencia al alza del 9.9% y una mortalidad del 4.0%, cifras significativamente superiores a los estándares de distribución global <sup>(2)</sup>. En Uruguay la incidencia reportada durante el período 2006-2010 fue de 12.2 /100.000 habitantes por año para el sexo masculino y 10.4/100.000 habitantes por año para el sexo femenino, con una mortalidad en el mismo período de 6.9/100.000 habitantes por año, correspondiendo a la 11va causa de muerte en la población uruguaya ([www.shu.com.uy/info\\_util\\_registro\\_leucemias.html](http://www.shu.com.uy/info_util_registro_leucemias.html)).

### Clasificación

La OMS clasifica los LNH en más de 80 subtipos diferentes. En este proyecto nos centramos en los LNH originados en las células B, siendo estos los más frecuentes. Recientemente, fue descrita la clasificación para neoplasias linfoides propuesta por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2022. Sin embargo, en este trabajo utilizamos la clasificación de la OMS 2016

ya que era la vigente al momento de realizar el estudio y la que se utilizó por anatomía patológica (AP) para emitir sus informes[5].

Dentro de estas neoplasias, la OMS las diferencia en cinco categorías: neoplasias de precursores de linfocitos B, neoplasias de linfocitos B periféricos, neoplasias de precursores de linfocitos T, neoplasias de linfocitos T y NK periféricos y linfoma de Hodgkin[2].

Los LNH-B son un grupo heterogéneo de neoplasias B con diferentes características inmunofenotípicas, morfológicas, citogenéticas/moleculares y clínicas (Tabla 1)[2].

**Tabla 1. Subtipos de LNH-B maduros reconocidos por la OMS 2016.**

Neoplasias de Células B maduras.
Leucemia linfocítica crónica/linfoma linfocítico de células pequeñas.
Linfocitosis monoclonal de células B.
Leucemia prolinfocítica de células B.
Linfoma esplénico de la zona marginal.
Leucemia de células peludas.
Linfoma linfoplasmocítico.
Macroglobulinemia de Waldenström.
Gammapatía monoclonal de significado incierto, IgM.
Enfermedad de cadena pesada $\mu$ .
Enfermedad de cadena pesada $\gamma$ .
Enfermedad de cadena pesada $\alpha$ .
Gammapatía monoclonal de significado incierto, IgG/A.
Mieloma múltiple.
Plasmocitoma óseo solitario.
Plasmocitoma extramedular.
Enfermedad por deposición monoclonal de inmunoglobulina.
Linfoma extranodal asociado a mucosas de la zona marginal.
Linfoma nodal de la zona marginal.
Linfoma folicular.
Neoplasia folicular in situ.
Linfoma folicular de tipo duodenal.

Linfoma folicular pediátrico.
Linfoma primario cutáneo centrofolicular.
Linfoma de células del manto.
Linfoma de células B difuso de células grandes, (LBDCG), NOS*.
LBDCG tipo centro germinal.
LBDCG tipo activado.
LBDCG rico en células T/histiocitos.
LBDCG primario del sistema nervioso central.
LBDCG cutáneo primario, tipo pierna.
LBDCG VEB+, NOS.
LBDCG asociado a inflamación crónica.
Granulomatosis linfomatoide.
Linfoma primario mediastinal tímico de células B grandes
Linfoma intravascular de células grandes B.
Linfoma anaplásico de células grandes, ALK+.
Linfoma plasmablástico.
Linfoma primario de efusiones.
Linfoma de Burkitt.
Linfoma de células B de alto grado, con reordenamientos de MYC y BCL2 y/o BCL6.
Linfoma de células B de alto grado, NOS.
* NOS: Not Otherwise Specified.

### **Diagnóstico de LNH-B y rol del inmunofenotipo por citometría de flujo**

El diagnóstico de LNH se realiza por el estudio histológico e inmunofenotípico (inmunohistoquímica) en una biopsia de tejido afectado. Actualmente la citometría de flujo (CF) y la citogenética complementan el diagnóstico y facilitan la valoración pronóstica, pero el Gold Standard (GS) para el diagnóstico de LNH es la histología. Algunos de los problemas de la histología en general y particularmente en nuestro país es que requiere un tiempo prolongado para obtener los resultados, en nuestro medio aproximadamente de 20 días. Asimismo, es operador dependiente, por lo que para realizar diagnóstico de LNH y de sus diferentes subtipos se requiere de un patólogo con experiencia y en muchos casos especializado en hematopatología. En ciertas oportunidades se debe extraer el ganglio linfático (GL) quirúrgicamente, lo cual es un procedimiento invasivo para el paciente, que requiere de un



equipo calificado para realizarlo y, en algunos casos, del uso de anestesia general, siendo esta otra desventaja, por exponer a los pacientes a los posibles efectos adversos de la misma.

Existen distintas formas de obtener el material para hacer el diagnóstico:

**-Biopsias exéresis/incisional de la adenopatía o tejido extraganglionar afecto:** es el método de elección según las guías clínicas. Estas guías sugieren que debe ser el método de elección en adenopatías o tumoraciones superficiales. En aquellos pacientes con adenopatías profundas no accesibles a la palpación o que por su localización tienen mayor riesgo quirúrgico, la aproximación dependerá de la situación del paciente, de la sospecha diagnóstica, del tamaño, así como de la adherencia a planos profundos. En el caso de masas en mediastino anterior, para efectuar un correcto diagnóstico es necesario realizar una mediastinoscopia con biopsia incisional (la rentabilidad de las muestras de punción obtenidas mediante ecobroncoscopia (EBUS) para el diagnóstico de procesos hematológicos es en general bajo) o en su defecto, una biopsia con aguja gruesa (BAG) (14-16 G). En el caso de adenopatías retroperitoneales o intraabdominales, ante un paciente con situación clínica que permita afrontar la cirugía, se prefiere realizar una laparoscopia/laparotomía con toma de biopsia escisional/incisional. En caso de que la situación clínica del paciente no permita una cirugía (por situación general, comorbilidades, coagulopatía, etc.) o el diagnóstico de linfoma sea poco probable, se podrá realizar una BAG[6].

**-Biopsia con aguja gruesa (BAG):** la misma se basa en la extracción de una pequeña porción de tejido para su posterior análisis. El hecho de poder extraer tejido y no solo células aisladas, como lo que obtenemos con la biopsia de aguja fina, nos brinda mayor información sobre la muestra. Se puede hacer BAG en la mayoría de las partes del cuerpo. Las mas comunes son los nódulos linfáticos, los senos, la próstata y los huesos[6].

Es la aproximación que se recomienda utilizar en aquellos casos en los que el diagnóstico de linfoma no sea probable, o que en caso de que la sospecha sea linfoma no se pueda realizar una biopsia exéresis/incisional por la situación clínica del paciente. Siempre que sea posible, se sugiere obtener 6-8 cilindros con una aguja de 14-16G[6]

**-Punción-Aspiración con Aguja Fina (PAAF):** a pesar de la relativa facilidad y el reducido número de complicaciones que presenta la PAAF (dirigida o no mediante técnicas de imagen), debido al escaso rendimiento diagnóstico, esta prueba no se recomienda realizar para el

diagnóstico inicial de un paciente con adenopatías de posible origen neoplásico. Igualmente puede ser utilizada como medio para orientar el manejo del paciente con baja sospecha de proceso neoplásico. Esta técnica ha demostrado en algunos artículos aspectos positivos, tales como agilizar el diagnóstico de manera mínimamente invasiva, posibilitando iniciar una acción terapéutica más rápidamente. En contraparte, se ha demostrado que su rendimiento es inferior en relación a la exéresis de GL, debido a que la cantidad de la muestra es menor, no siendo representativa del ganglio en su totalidad. También se ha reportado una menor sensibilidad para el diagnóstico de LNH por citometría[7,8].

**-La citometría de flujo:** constituye una técnica avanzada, objetiva y altamente sensible, muy útil tanto para el diagnóstico como para el seguimiento de pacientes afectados por neoplasias hematológicas. Se presenta como un método de análisis de laboratorio que permite analizar las proteínas que se encuentran en la superficie o dentro de una célula tumoral en una muestra en suspensión; brindando así información rápida, en aproximadamente 48 horas[9]. Se caracteriza por el empleo de anticuerpos monoclonales conjugados a fluorocromos, que son detectados y visualizados rápidamente mediante un sistema informático. Utiliza una gran variedad de anticuerpos monoclonales contra diferentes antígenos en la membrana celular o intracelulares. Cabe destacar que marcadores altamente específicos se desarrollan continuamente para mejorar el diagnóstico[9]. Esta técnica presenta múltiples ventajas frente al uso del microscopio de fluorescencia y de las técnicas inmunohistoquímicas. En primer lugar, permite analizar un elevado número de células en suspensión en un corto período (5000 partículas/segundo). Por otro lado, ofrece información simultánea de varios parámetros como el tamaño y la complejidad celular, en un gran número de células y paralelamente antígenos de superficie y citoplasmáticos. También permite cuantificar la densidad antigénica en cada célula por medio de la intensidad media de fluorescencia del anticuerpo que se une a ese antígeno. Posee una sensibilidad superior a  $1 \times 10^4$ , es decir, es capaz de detectar una célula tumoral entre 10.000 células normales[10]. Se usa para distinguir entre reacciones benignas y malignas. Además, se ha utilizado para clasificar algunos tipos y subtipos dentro de la patología de base. Permite un análisis cualitativo y cuantitativo de la expresión de antígenos celulares y a su vez realizar un análisis multiparamétrico. Esta técnica ha cobrado relevancia en los últimos años, demostrando ser un método más rápido y con una buena relación costo-beneficio[10].

Como desventaja se destacan la necesidad de utilizar una muestra en suspensión y que no permite conocer la disposición de las células malignas en el tejido, perdiéndose por lo tanto la

morfología tisular, además de no ser adecuada para conocer la morfología celular. También es operador dependiente y requiere de un profesional entrenado.

**Por estos motivos la CF es considerada un método complementario para el diagnóstico de LNH, permitiendo en muchas ocasiones tomar decisiones terapéuticas en forma rápida (primeras 48 hs) mientras se espera el resultado definitivo de la histología[10].**

Algunos estudios han mostrado resultados preliminares de la correlación de ambas técnicas, llegando a la conclusión de que la correlación entre los resultados de las mismas para LNH oscila entre un 75-86.3% de los casos, aproximadamente[8,11]. Se intenta a su vez encontrar causas que expliquen las discordancias en el diagnóstico de esta patología entre ambas técnicas, destacándose errores en la toma de muestra, la coexistencia de lesiones malignas y benignas en un sólo nódulo linfático, entre otras. Un estudio llevado a cabo en San Pablo, publicado en el año 2011 compara estas dos técnicas diagnósticas en tejido ganglionar linfático en diferentes enfermedades linfoproliferativas, incluyendo los LNH-B, en la cual ambas técnicas coincidieron en un 86.3% de los casos. En este mismo estudio se ponen en comparación estas dos técnicas, utilizando como parámetros la sensibilidad, la especificidad, el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN). Las muestras que se utilizaron en este estudio se tomaron de diferentes localizaciones. En lo que concierne a los nódulos linfáticos, 145 fueron superficiales (cuello, inguinales y axilares) y profundos (mediastinales, peripancreáticos, paraaórticos y regiones yuxtacarótídeas). Por otra parte, los sitios de las muestras de masas tumorales se extrajeron del bazo, riñones, intestino delgado, pulmones, isquion, parótidas, cuero cabelludo y nasofaringe. Se obtiene como resultado que la sensibilidad de la CF en comparación con la histología fue de 77%, y el valor de la especificidad fue de 97%. Por otra parte, el VPP fue también de 77%, mientras que el VPN fue de 100%[11].

El laboratorio de CF del Hospital de Clínicas (HC) es un laboratorio de referencia a nivel nacional, donde se procesan muestras procedentes del sistema de salud público y privado. Por su carácter universitario el caudal de muestras provenientes de tejidos es mucho mayor que en otros laboratorios de citometría clínica. Este trabajo tiene como objetivo conocer el valor diagnóstico de la citometría en los LNH-B. Además, se pretende conocer su rendimiento en forma general y particularmente en los diferentes tejidos y estrategias de biopsias realizadas.

## Objetivo general y objetivos específicos

---

### ***Objetivo general:***

- Conocer el valor diagnóstico de la CF en los síndromes linfoproliferativos de tipo B.

### ***Objetivos específicos:***

- Correlacionar el diagnóstico inmunofenotípico por CF con el del estudio anatomopatológico.
- Conocer el valor diagnóstico de citometría en los distintos subtipos histológicos de LNH-B y en las distintas localizaciones y tipos de biopsia realizados de forma de analizar cuales son los principales factores que afectan el rendimiento diagnóstico.

## Metodología

### Materiales y métodos

Se realizó un estudio observacional retrospectivo. Se consideró como población objetivo a todos los pacientes del HC diagnosticados con Linfoma no Hodgkin de tipo B (LNH-B) entre marzo de 2020 y marzo de 2022 que contaban con un diagnóstico realizado a través de un estudio anatomopatológico y por CF.

**Criterios de inclusión:** Personas mayores de 18 años. Pacientes del HC. Pacientes que cuenten con diagnóstico de LNH-B por AP y CF.

**Criterios de exclusión:** Todos aquellos pacientes no contemplados en los criterios de inclusión.

### Procesamiento de las muestras ganglionares en Laboratorio de Citometría y Biología Molecular

Se incluyeron las muestras de biopsia ganglionar de los pacientes con diagnóstico presuntivo de linfopatía tumoral que fueron remitidas al Laboratorio de Citometría y Biología Molecular (LCBM) para realizar el estudio diagnóstico por CF.

Para la adquisición de los datos se utilizó el software FACS-DIVA y para el análisis de los resultados el software Infinicyt. Posteriormente se realizó un informe de donde se extrajeron los datos para este trabajo.

### Descripción metodológica de trabajo

Se utilizó la base de datos del LCBM del HC de la Universidad de la República (UdelaR) de pacientes que cumplieran con los criterios de inclusión dentro del intervalo de tiempo establecido. Se extrajeron los datos que dieran respuesta a las variables establecidas y previamente operacionalizadas.

Con el objetivo de realizar el relevamiento y categorización de la información, se utilizó el programa Estadístico Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 21 de International Business Machines Corporation (IBM). Para ello, se confeccionó una planilla de recolección de datos donde se incluyeron las variables de interés. En anexo 1 se detalla la descripción operacional de las variables.

### **Análisis estadístico**

Para el análisis de los datos se utilizó SPSS 21 para Windows. Se utilizaron técnicas de estadística descriptiva e inferencial. Como medidas de resumen se utilizó media y mediana y como medidas de dispersión desvío estándar y rango intercuartil. Se utilizaron además proporciones en forma de porcentajes. Para evaluar la relación de calidad de muestra con el método de obtención de la misma se utilizó el test estadístico de chi cuadrado. Se consideró como estadísticamente significativo un valor de  $p < 0,05$ . Se utilizaron test no paramétricos.

Se calculó sensibilidad, especificidad, VPP, VPN del test diagnóstico para las diferentes muestras. Además se realizó el cálculo del intervalo de confianza al 95% en cada uno de ellos.

Dado la importancia del diagnóstico y las medidas terapéuticas a implementar se busca que sea un estudio altamente específico, por lo que consideramos tendrá valor diagnóstico si tiene una especificidad y VPP superior a 80%. Para evaluar la concordancia entre el diagnóstico de LNH-B por CF y la histología se utilizó el índice Kappa. Según lo reportado por Landis y Koch consideramos una fuerza de concordancia pobre o débil si los valores son menores a 0,40; moderada, para valores de entre 0,41 y 0,60; buena, entre 0,61 y 0,80, y muy buena para valores superiores hasta 1[12].

### **Aspectos Bioéticos**

El siguiente proyecto de estudio fue presentado previo a su realización ante el Comité de Ética del HC, recibiendo su aprobación el 30 de junio de 2022. Se solicitó la eximición de solicitar consentimiento informado (teniendo en cuenta lo expresado en la Pauta 10 de las Pautas CIOMS[13]) debido a que el hospital es un centro de referencia a nivel nacional que atiende pacientes de diferentes lugares del país. Además, el presente estudio es considerado de alto impacto dado que incide en el cambio del abordaje médico sobre el tema. Este estudio podrá ayudar a generar nuevas guías diagnósticas en los pacientes con adenopatías o tumoraciones de etiología desconocida y que requieren un diagnóstico rápido.

En todo momento se respetó la confidencialidad y privacidad de la información de los pacientes (acorde a lo pautado por la Ley N° 18.331 de Protección de Datos Personales[14]), no accediendo a los mismos ningún tercero ajeno al equipo de investigación, utilizándolos siempre con responsabilidad técnica y ética.

## Resultados

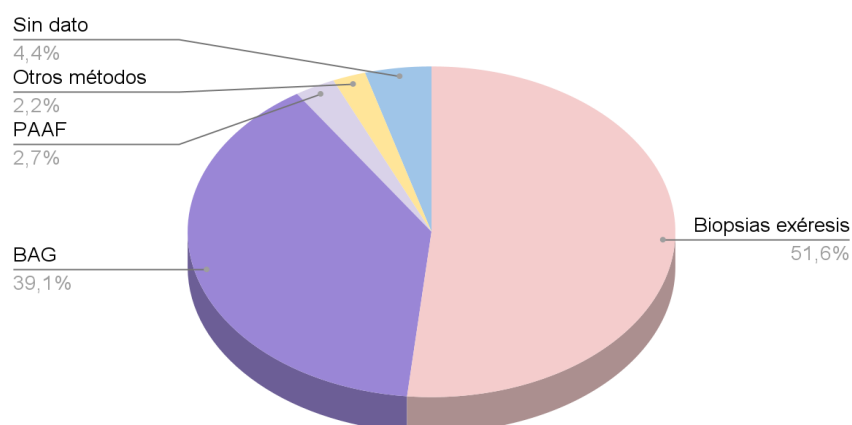
Se analizaron por CF un total de **184** muestras con sospecha clínica de linfoma. La media de edad es de **51,1±17,4**. La relación masculino/femenino fue de **1.3**. En cuanto a la historia de inmunocompromiso (IC) **148 (80.4%)** no presentaban con historia de IC, **29 (15,8%)** tenían diagnóstico de VIH, **2 (1,1%)** eran receptores de trasplantes, **5 (2,7%)** no se registró en la historia clínica este dato. En la tabla 2 se muestran las características de la población estudiada.

Tabla 2. Características de la población		
		N= 184
Edad (media ± DS)		51,14 ± 17,37
Masculino:femenino		106 (57,6%) : 78 (42,4%)
Diagnóstico	LNH-B n (%)	47 (25,6%)
	LNH-T n (%)	6 (3,3%)
	L: Hodgkin n (%)	15 (8,2)
	Tumor solido n (%)	5 (2,7)
	Otros n (%)	28 (15,2%)

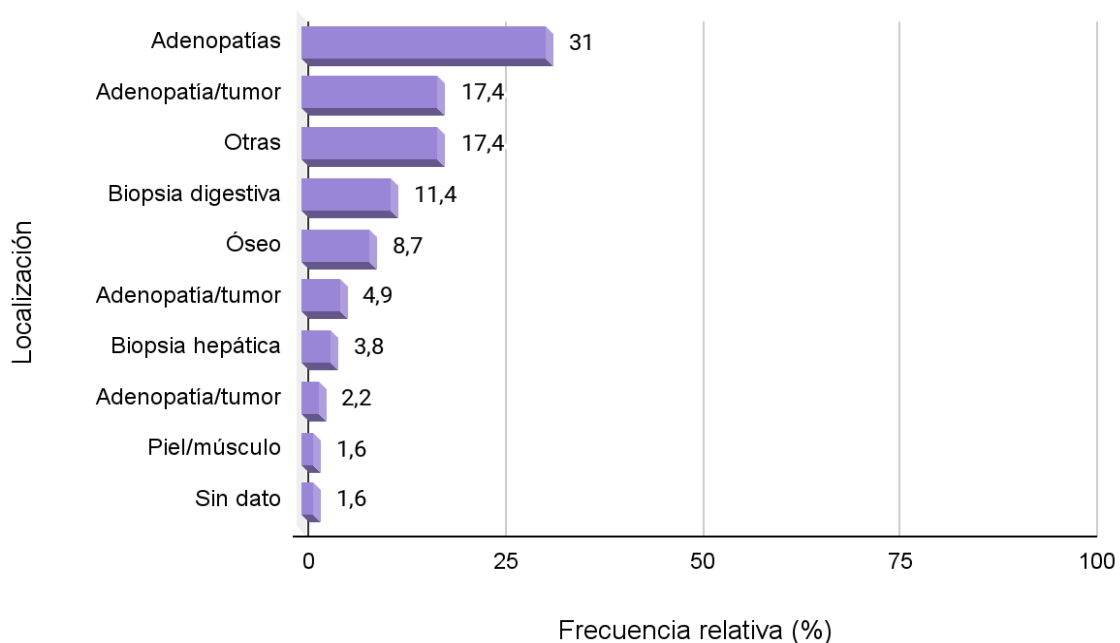
Como se muestra en la figura 1, la biopsia realizada por exéresis fue el método de obtención de la muestra más frecuentemente utilizado correspondiendo **95 (51,6%)** a biopsias exéresis, seguido por **72 (39,1%)** a BAG, **5 (2,7%)** a PAAF y **4 (2,2%)** corresponden a otros métodos alternativos de obtención de la muestra. En **8 (4,4%)** muestras no se contaba con el dato de la forma de extracción de la muestra.

### Ilustración 1. Métodos de obtención de la muestra

Se muestra en frecuencia relativa (%) los tipos de métodos de obtención de la muestra.



En la figura 2 se muestra la distribución de las muestras en relación al sitio de biopsia presentando los siguientes resultados: **57 (31,0%)** corresponden a adenopatías superficiales, **32 (17,4%)** a adenopatía/tumor mediastinal, **4 (2,2%)** a adenopatía/tumor abdominal, **9 (4,9%)** a adenopatía/tumor retroperitoneal, **7 (3,8%)** biopsia hepática percutánea, **21 (11,4%)** biopsia digestiva por procedimiento endoscópico, **3 (1,6%)** piel/músculo, **16 (8,7%)** óseo, **32 (17,4%)** corresponden a otras localizaciones. En **3 (1,6%)** biopsias no se contaba con el dato de localización de la biopsia.



### Ilustración 2. Localización anatómica de extracción de la muestra

Se muestra en frecuencia relativa (%) los tipos de sitios anatómicos donde se extrajeron las muestras.

En cuanto a los resultados por CF **122 (66,3%)** fueron informados como sin evidencia de LNH, **47 (25,5%)** fueron informados como LNH-B, **5 (2,7%)** fueron informados como LNH-T, por otra parte los registros que no contaban con el resultado de la CF fueron un total de **10 (5,4%)** por tratarse de una muestra insuficiente para su procesamiento.



<b>Tabla 3. Resultados diagnósticos de citometría de flujo e histología</b>		
	Citometría de Flujo n=184	Histología definitiva n=184
Sin evidencia de LNH	122 (66.3%)	70 (38,0%)
Tumor sólido, Linfoma de Hodgkin u otros diagnósticos	n/c	48 (26,1)
Presencia de LNH-B	47 (25.6%)	47 (25,6%)
Presencia de LNH-T	5 (2.7%)	6 (3,3%)
Sin aproximación del subtipo	n/c	8 (4,3%)
Muestra no evaluable	10 (5.4%)	5 (2,7 %)
n/c: no corresponde		

Respecto a los resultados de AP extemporánea **19 (10,3%)** fueron compatibles con LNH, **10 (5,4%)** evidenciaron procesos malignos no tipificados, **3 (5,6%)** correspondieron a otros diagnósticos, **16 (8,7%)** no evidenciaron procesos tumorales y en **84 (45,7%)** no fue realizado el estudio extemporáneo.

Con respecto al diagnóstico realizado por parte de AP mediante la interpretación de su informe, podemos cuantificar los siguientes datos: del total de la muestra, **8 (4,3%)** fueron aproximaciones nulas o fallos en la aproximación al subtipo, **9 (4,9%)** linfoma folicular, **16 (8,7%)** linfoma difuso de grandes células B centrogerminal, **9 (4,9%)** linfoma difuso de grandes células B no centrogerminal, **4 (2,2%)** linfoma del manto, **2 (1,1%)** linfoma de Burkitt, **4 (2,2%)** linfoma plasmoblástico, **6 (3,3%)** linfoma T, **15 (8,2%)** linfoma de Hodgkin, **5 (2,7%)** tumor sólido, **28 (15,2%)** fueron catalogados como "otros", se entiende por otros a terceras variables que no fueron establecidas previamente, **70 (38%)** corresponden a informes de AP que informaron la no existencia de linfoma, además, dentro de los linfomas menos prevalentes se pudieron identificar **1 (0,5%)** linfomas linfoblásticos B y **2 (1%)** resultados que informaban un linfoma marginal; **5 (2,7%)** corresponden a casos perdidos en el sistema.

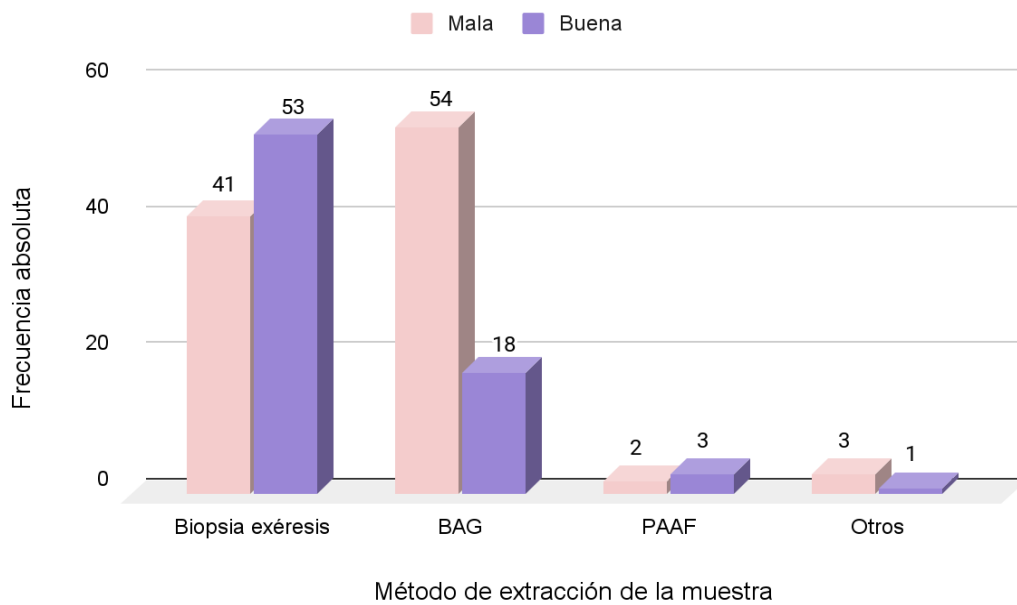
Respecto al diagnóstico final por el hematólogo, **10** corresponden a un linfoma folicular (**5,4%**), **19** a un Linfoma difuso de grandes células B (LDGCB) centro germinal (**10,3%**), **13** LDGCB no centro germinal (**7,1%**), **4** a linfomas del manto (**2,2%**), **2** a linfoma de Burkitt (**1,1%**), **1** Linfoma linfoplasmocítico/ Waldstrom (**0,5%**), **2** linfoma plasmoblástico (**1,1%**), **7** Linfoma T (**3,8%**), **21** Linfoma Hodgkin (**11,4%**), **2** Tumor sólido (**1,1%**), **2** Linfoma marginal (**1,1%**), **36** otros (**19,6%**) y

**22** no fue posible realizar una aproximación de subtipo **(12%)**. Por último **43 (23,4%)** no poseen diagnóstico final clínico.

Como bien fue detallado en el marco teórico, la CF resulta ser un método confiable, seguro y rápido para obtener la información inmunofenotípica de la muestra analizada y brindar una aproximación diagnóstica con cierto grado de certeza, la cual posee un alto índice de coincidencias con el informe posteriormente presentado por AP a partir del análisis histológico de la muestra analizada. Una de las diferencias entre ambas técnicas diagnósticas es el tiempo que conlleva la emisión y recepción del informe.

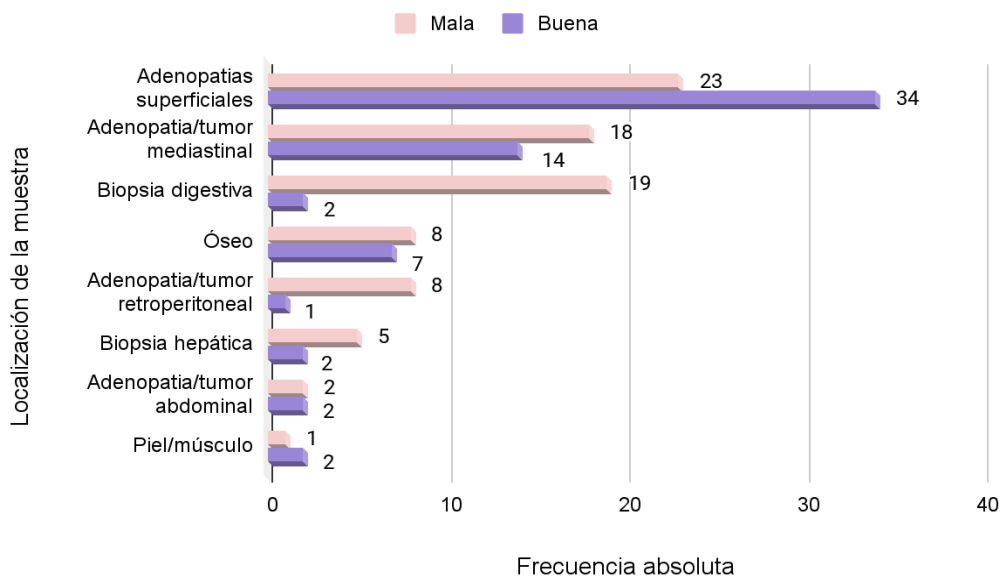
En nuestro trabajo, la mediana de días en la obtención del informe de CF fue de **1.0±1,35 días** comparado con el estudio anatomopatológico que fue de **23.9±17.3** días. Con el objetivo de analizar qué tipo de biopsia presenta mejor calidad de muestra se analizó la calidad de la muestra (categorizando calidad en 2 grupos: “buena” y “mala” muestra) en función del tipo de biopsia. De un total de **175** registros, dentro del grupo de mala muestra, **41 (23,4%)** corresponden a biopsias exéresis, **54 (30,9%)** a BAG, **3 (1,7%)** a PAAF. Dentro del grupo correspondiente a buena muestra, **53 (30,3%)** corresponden a biopsia exéresis, **18 (10,3%)** a BAG, **2 (1,1%)** a PAAF y **1 (0,6%)** a otro tipo de muestra (figura 3). El método de extracción de la muestra que registró mayores frecuencias de mala muestra fue el método BAG con **54** registros ( $p < 0,001$ ).

En la figura 4 se muestra la calidad de la muestra obtenida en las diferentes localizaciones de biopsia y se observa que las biopsias de adenopatías superficiales son las que tienen mejor calidad de biopsia, ( $p < 0,001$ ).



**Ilustración 3. Comparación de la calidad de la muestra en función del método de extracción para la citometría de flujo**

Se muestran los resultados de calidad de la muestra extraída en función del método utilizado: biopsia exéresis, BAG, PAAF y se categorizaron en 2 grupos: buena (*violeta*) y mala (*rosa*). Los datos se grafican en valores absolutos. Las diferencias fueron estadísticamente significativas - ( $p < 0,001$ ).



**Ilustración 4. Comparación de la calidad de la muestra en función de la localización de la muestra.**

Se muestran los resultados de comparar la calidad de la muestra en función de la localización de la misma: piel/músculo, adenopatía/tumor abdominal, biopsia hepática, adenopatía/tumor retroperitoneal, óseo, biopsia digestiva, adenopatía/tumor mediastinal, adenopatía superficial; buena (*violeta*) y mala (*rosa*). Los datos se grafican en valores absolutos. Las diferencias fueron estadísticamente significativas - ( $p < 0,001$ ).

**Capacidad diagnóstica del inmunofenotipo por citometría de flujo.**

Respecto a comparación global de los resultados de citometría vs la AP pudimos determinar una capacidad diagnóstica del test con una **sensibilidad de 60%** (I.C al 95% de 48,03 - 70,94%) y una **especificidad de 92,93%** (I.C al 95%: 85,49 - 96,87%); junto a **VPP de 86,54%** (I.C al 95%: 73,60 - 93,97%) y VPN de 75,41 (I.C al 95%: 66,63 - 82,55%).

<b>Tabla 4. Capacidad diagnóstica de la citometría de flujo en función de la calidad de la muestra</b>				
	Sensibilidad % (IC 95 %)	Especificidad % (IC 95%)	VPP % (IC 95 %)	VPN % (IC 95%)
Muestra de mala calidad en la citometría	63,3 (43,9- 79,5)	92,5 (82,7 – 97,2)	79,1 (57,3 – 92,1)	84,9 (74,2 – 91,9).
Muestra de buena calidad en la citometría	57,8 (42,2 - 72,0)	96,77 (81,5 - 99,8)	96,3 (79,1 - 99,8)	61,2 (46,2 - 74,4).

Tomando los IC 95% de cada variable analizada y a su vez comparándolo con los mismos intervalos de otras variables, podemos observar si los mismos se superponen o no; si los resultados comparados se superponen (como ocurre en este caso con todos los IC 95% analizados) significa que la sensibilidad de una y otra comparación podrían ser las mismas, por lo tanto; no hay elementos que nos permitan establecer que existen diferencias estadísticamente significativas entre la sensibilidad para los tipos de muestra buenas y malas,

o, dicho de otra manera: no hay evidencia estadísticamente significativa para concluir que las sensibilidades, especificidades, VPP ni VPN sean distintos.

En las tablas 4 y 5 se muestran las capacidades diagnósticas de la citometría en función del tipo de biopsia y de la localización de la misma.

<b>Tabla 5: Capacidad diagnóstica de la citometría de flujo en función del método de obtención de la muestra.</b>				
	Sensibilidad % (IC 95 %)	Especificidad % (IC 95%)	VPP % (IC 95 %)	VPN % (IC 95%)
Biopsia exéresis n= 90	51,2 (35,4 - 66,9)	93,9 (82,1 - 98,4)	87,5 (66,5 - 96,7)	69,7 (57,0 - 80,1)
BAG n= 68	72,4 (52,5 - 86,6)	94,9 (81,4 - 99,1)	91,3 (70,5 - 98,5)	82,2 (67,2 - 91,5)

<b>Tabla 6. Capacidad diagnóstica de la citometría de flujo en función de la localización de la muestra.</b>				
	Sensibilidad % (IC 95 %)	Especificidad % (IC 95%)	VPP % (IC 95 %)	VPN % (IC 95%)
Adenopatías superficiales n= 55.	50 (31,7 - 68,9)	96,3 (79,1 - 99,8)	93,3 (66,0 - 99,6)	65,0 (48,3 - 78,9)
Adenopatías retroperitoneales n= 9	80,0 (29,9 - 98,9)	100,0 (39,6 - 97,6)	100,0 (39,6 - 97,6)	80,0 (29,9 - 98,9)
Adenopatías profundas n= 43	52,4 (30,3 - 73,6)	95,5 (75,1 - 99,8)	91,7 (59,8 - 99,6)	67,7 (48,5 - 82,7)

Tumores/adenopatías abdominales n= 13	77,8 (40,2 - 96,1)	100,0 (40 - 97,7)	100,0 (56,1 - 98,7)	66,7 (24,1 - 94)
Tumores/adenopatías mediastinales n= 30	33,3 (11,3 - 64,6)	94,4 (70,6 - 99,7)	80 (29,9 - 99,0)	68 (46,5 - 84,3)
Biopsias hepáticas n= 7	50 (2,7 - 97,3)	60 (17,0 - 92,3)	33,3 (1,8 - 87,5)	75 (21,9 - 98,7)
Biopsias digestivas n= 19	66,7 (12,5 - 98,2)	100,0 (19,8 - 95,1)	100,0 (19,8 - 95,1)	94,1 (69,2 - 99,7)

Finalmente, analizamos la concordancia entre diagnóstico de presencia o ausencia de LNH-B en la muestra por CF e histología utilizando el índice kappa. Esto nos da un índice kappa de 0.5 que corresponde a una concordancia moderada. En 7 casos que la histología no observó linfoma la citometría si lo hizo (4.0%) y en 30 casos que la histología observó linfoma, la citometría no lo hizo (17.2%). En el resto de los casos si hubo concordancia diagnóstica.

## Discusión y conclusiones

En las últimas décadas, una de las herramientas de mayor utilidad en la rutina clínica ha sido la CF multiparamétrica, la cual se caracteriza por su elevada sensibilidad, especificidad, rapidez, aplicabilidad y reproducibilidad para el análisis de muestras donde se sospeche enfermedades hematológicas benignas o malignas. La citometría se utiliza al momento del diagnóstico, para evaluar extensión lesional y respuesta al tratamiento.

Una de las grandes ventajas de la citometría es que se puede aplicar en diversas muestras biológicas como médula ósea, sangre periférica y muestras especiales como biopsias de ganglio, líquidos corporales (líquido cefalorraquídeo, lavado bronco alveolar, líquido pleural, entre otros)[18].

El objetivo de esta monografía fue estudiar el valor diagnóstico de la CF en los síndromes linfoproliferativos crónicos de tipo B comparado con el diagnóstico final anatómico-patológico (Gold standard). Se documentan los hallazgos obtenidos del estudio de 184 muestras de tejido (ganglios linfáticos u otros tejidos sólidos) evaluadas en un periodo de 2 años en el laboratorio de CF del HC para diagnóstico inmunofenotípico.

Existe escasa literatura comparando la CF en tejidos con la AP. En algunos trabajos, se ha reportado el poder diagnóstico de la CF en LNH en muestras de PAAF pero son pocos los que evalúan el poder diagnóstico en muestras de tejido ganglionar o tumoral como en nuestro caso[7,8,19–21]. En forma global se ha observado que la CF tiene una elevada especificidad (mayor a 90%) y VPP (mayor a 85%) con una sensibilidad moderada (60%). La concordancia de la CF y la AP fue moderada, ya que en 17% de los casos la CF no pudo realizar diagnóstico de LNH-B cuando la AP si lo hizo. Mara et al. publicaron un trabajo realizado en Brasil donde evaluaron el poder diagnóstico de la citometría en el diagnóstico de linfomas de muestras de ganglio y PAAF y similar a nuestros hallazgos observaron una especificidad de 97% y una sensibilidad superior a la nuestra de 77%[11]. Una de las razones más importantes para la baja utilización de la CF para el diagnóstico de LNH-B es la falta de estandarización y la heterogeneidad en los marcadores y metodologías utilizadas. En los últimos años esto se ha intentado corregir. Por ejemplo, un estudio recientemente publicado por Bottcher *et al.*, realizado por el consorcio Euroflow, evaluaron 662 muestras en 9 laboratorios siguiendo la estrategia estandarizada propuesta por este consorcio. Utilizaron un análisis automatizado para evaluar el poder diagnóstico de la CF por subtipo de los síndrome linfoproliferativos de

células B. Reportaron que el VPP fue muy alto (mayor a 95%) en algunos subtipos como son la leucemia linfocítica crónica, tricoleucemia, linfoma folicular y linfoma del manto, pero hubo dificultades en otros tipos de linfomas como el linfoma difuso a grandes células B. El VPN fue alto, mayor a 90% en todas las enfermedades, excepto en linfoma folicular. Este trabajo demuestra que la CF no sólo es útil en evaluar la presencia o ausencia de LNH-B en el tejido ganglionar, sino que puede incluso ser útil en aproximar un diagnóstico de subtipo en algunas variedades[22].

Además, en este trabajo se analizó el poder diagnóstico de la CF en función del tipo de muestra. Las muestras más representativas fueron biopsia exéresis y BAG, ya que la PAAF fue escasamente utilizada debido a que este método se encuentra actualmente en desuso. Por otra parte, como se ve en los pocos casos que fue utilizada, mostró elevada frecuencia de malas muestras. Por lo tanto, nos centramos en el análisis de BAG y biopsia exéresis y observamos que la calidad de la muestra en la BAG fue peor que en la biopsia exéresis en forma significativa. Sin embargo, cuando analizamos la sensibilidad y el VPN en la detección de LNH-B, fue superior en la BAG que en la biopsia exéresis, con una especificidad similar superior a 90%. Es importante destacar que en nuestro caso la muestra que analizan ambos métodos no es exactamente la misma, ni tampoco los tiempos en que demora la muestra para ser analizada en el laboratorio de CF. En las BAG la biopsia es del mismo sector, pero se hacen varias biopsias, y en el caso de las biopsias exéresis éstas se fragmentan luego de la cirugía y se envían a los distintos laboratorios. Una hipótesis a plantear es que, dado que muchas de estas biopsias se realizan de urgencia y sin médico anatómo-patólogo en block, las muestras de biopsia exéresis no se estén procesando y fragmentando correctamente en block quirúrgico y se envíe al laboratorio de CF un sector de biopsia no representativo de la infiltración linfomatosa, como puede ser la cápsula o sector de ganglio normal. Adicionalmente, no contamos con el tiempo de demora de envío de la muestra desde block quirúrgico al laboratorio de CF, ya que si el mismo es largo las células linfomatosas pueden morir por apoptosis y no ser evaluables por CF. Otro factor que puede estar afectando el resultado es que no se esté procesando adecuadamente la muestra en el laboratorio y se realice un muestreo incorrecto de la pieza, mientras que en la BAG se procesa toda la muestra ya que esta es muy pequeña. Estos resultados son muy valiosos para el laboratorio de CF porque con el objetivo de mejorar la sensibilidad se revisará todo el protocolo de biopsia desde el block quirúrgico hasta su procesamiento en el laboratorio. Por otro lado, con respecto a la



localización de las biopsias, en todos los sitios menos en las biopsias hepáticas se observaron muy buenos resultados en términos de especificidad y VPP. La especificidad en las biopsias hepáticas, si bien fue una muestra escasamente representada en nuestro estudio con 7 biopsias, fue de 60%. Esto amerita un estudio con mayor número de muestras para poder evaluar su verdadero rendimiento diagnóstico. La sensibilidad varió dependiendo del sitio de biopsia, siendo mayor en adenopatías profundas, abdominales, retroperitoneales y digestivas, en donde predominaban las biopsias por BAG y menor en las superficiales y mediastinales, en donde predominaron las biopsias exéresis, hecho que ya fue analizado.

Otro elemento que es clínicamente relevante, es el tiempo en la demora de la emisión de un informe. En este estudio, la mediana en días desde la fecha de la realización de la biopsia y la entrega del informe fue de 1 día para la CF y 23 días para la AP. Contar con un estudio que informe LNH-B en forma precoz, permite instaurar un tratamiento oportuno. Teniendo en cuenta el alto VPP y especificidad, informar la presencia de un LNH-B al clínico mediante el método de la CF es altamente predictor de la presencia del mismo, aún sin tener disponible un diagnóstico anatómico patológico. Esto puede llegar a ser crucial en linfomas que poseen un inmunofenotipo de característica agresiva, como por ejemplo linfoma de Burkitt, linfoblástico o difuso a grandes células B.

En conclusión, en este trabajo pudimos confirmar que el inmunofenotipo en muestra ganglionar o de tumor por CF es un método diagnóstico muy rápido, que presenta una elevada especificidad, incluso en biopsias de mala calidad, lo cual permite adelantar los tiempos diagnósticos, pese a que su sensibilidad no es tan elevada.

### **Perspectivas**

Este trabajo permitió conocer el poder diagnóstico de la CF en muestras de ganglio o tumor. Permitted observar debilidades, como es la sensibilidad en muestras extraídas por biopsia exéresis, lo que amerita revisar el protocolo de las mismas. El mismo continuará y con un mayor número de muestras procesadas estaremos en condiciones de evaluar el poder diagnóstico de la CF en los diferentes subtipos de LNH-B.

## Referencias

- [1] Gutierrez G. Manual Práctico de Hematología Clínica. 5th ed. Madrid: 2015.
- [2] Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Lee Harris N, Stein H, Siebert R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* 2016;127:2375–90. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2016-01-643569>.
- [3] SEER. Non-Hodgkin Lymphoma - Cancer Stat Facts. Natl Cancer Inst 2011. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/nhl.html> (accessed November 14, 2022).
- [4] Global Cancer Observatory (IARC) 2022. <https://gco.iarc.fr>.
- [5] Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, Attygalle AD, Araujo IB de O, Berti E, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia* 2022. <https://doi.org/10.1038/s41375-022-01620-2>.
- [6] Parker A, Bain B, Devereux S, Gatter K, Jack A, Matutes E, et al. Best Practice in Lymphoma Diagnosis and Reporting. *Br Comm Stand Haematol* 2010:1–59.
- [7] Barrena S, Almeida J, Del Carmen García-Macias M, López A, Rasillo A, Sayagués JM, et al. Flow cytometry immunophenotyping of fine-needle aspiration specimens: utility in the diagnosis and classification of non-Hodgkin lymphomas. *Histopathology* 2011;58:906–18. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2559.2011.03804.X>.
- [8] Ensani F, Mehravaran S, Irvanlou G, Aghaipour M, Vaeli S, Hajati E, et al. Fine-needle aspiration cytology and flow cytometric immunophenotyping in diagnosis and classification of non-Hodgkin lymphoma in comparison to histopathology. *Diagn Cytopathol* 2012;40:305–10. <https://doi.org/10.1002/DC.21561>.
- [9] Manohar SM, Shah P, Nair A. Flow cytometry: principles, applications and recent advances. *Bioanalysis* 2021;13:185–202. <https://doi.org/10.4155/BIO-2020-0267>.
- [10] Kroft SH, Harrington AM. Flow Cytometry of B-Cell Neoplasms. *Clin Lab Med* 2017;37:697–723. <https://doi.org/10.1016/J.CLL.2017.07.001>.
- [11] Bezerra AMPS, Pasqualin D da C, Guerra JC de C, Colombini MP, Velloso EDRP, Silveira PAA, et al. Correlation between flow cytometry and histologic findings: ten year experience in the investigation of lymphoproliferative diseases. *Einstein (Sao Paulo)* 2011;9:151–9. <https://doi.org/10.1590/S1679-45082011AO2027>.
- [12] Landis JR, Koch GG. The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data. *Biometrics* 1977;33:159. <https://doi.org/10.2307/2529310>.

- [13] Organización Panamericana de la Salud y Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas. Pautas éticas internacionales para la investigación relacionada con la salud con seres humanos, Cuarta Edición. Ginebra: Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS); 2016.
- [14] Ley N° 18331. 2008.
- [15] Ley N° 18335 n.d. <https://www.impo.com.uy/bases/leyes/18335-2008> (accessed November 14, 2022).
- [16] Decreto N. Decreto N° 158/019 2019:7–10.
- [17] Emanuel E. ¿Qué hace que una investigación clínica sea ética? Siete requisitos éticos. 2003.
- [18] Van Dongen JJM, Lhermitte L, Böttcher S, Almeida J, Van Der Velden VHJ, Flores-Montero J, et al. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia* 2012;26:1908–75. <https://doi.org/10.1038/leu.2012.120>.
- [19] Demurtas A, Accinelli G, Pacchioni D, Godio L, Novero D, Bussolati G, et al. Utility of flow cytometry immunophenotyping in fine-needle aspirate cytologic diagnosis of non-Hodgkin lymphoma: A series of 252 cases and review of the literature. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2010;18:311–22. <https://doi.org/10.1097/PAI.0b013e3181827da8>.
- [20] Tbakhi A, Edinger M, Myles J, Pohlman B, Tubbs RR. Flow cytometric immunophenotyping of non-Hodgkin's lymphomas and related disorders. *Cytometry* 1996;25:113–24. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0320\(19961001\)25:2<113::AID-CYTO1>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0320(19961001)25:2<113::AID-CYTO1>3.0.CO;2-I).
- [21] Demurtas A, Stacchini A, Aliberti S, Chiusa L, Chiarle R, Novero D. Tissue flow cytometry immunophenotyping in the diagnosis and classification of non-Hodgkin's lymphomas: A retrospective evaluation of 1,792 cases. *Cytom Part B - Clin Cytom* 2013;84 B:82–95. <https://doi.org/10.1002/cyto.b.21065>.
- [22] Bottcher S, Engelmann R, Grigore G, Fernandez P, Caetano J, Flores-Montero J, et al. Expert-independent classification of mature B-cell neoplasms using standardized flow cytometry: a multicentric study. *Blood Adv* 2022;6:976–92. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2021005725>.

## Agradecimientos

---

Como forma de finalizar este proceso de aprendizaje, dedicación y trabajo en equipo, nos gustaría brindar una serie de agradecimientos. Condiciones sin las cuales, poder llevar adelante este trabajo de investigación no hubiera sido posible:

En primer lugar, agradecer al Departamento Básico de Medicina (DBM) y a la Cátedra de Hematología del Hospital de Clínicas de la Universidad de la República, en las figuras de la Prof. Dra. Daniela Lens y la Prof. Agda. Dra. Sofia Grille, por ser las ideólogas de esta propuesta de investigación a la cual nos sumamos para conformar un equipo de investigación que hoy resulta en el trabajo que aquí se refleja. También, por brindarnos la accesibilidad a las instalaciones de los Departamentos para poder establecer espacios de reunión común y trabajo colectivo.

**Anexo N°1: Operacionalización de variables. (19)** ESPINOZA FREIRE, Eudaldo Enrique. Las variables y su operacionalización en la investigación educativa. Segunda parte. Conrado [online]. 2019, vol.15, n.69 [citado 2022-05-24], pp.171-180.

1. *Nombre: Diagnóstico por Anatomía patológica (DAP)*
  1. *Definición conceptual: Tipo de LNH tipo B*
  2. *Operación: Será la referencia contra la que contrastar los resultados de citometría y el resto de las variables.*
2. *Nombre: Diagnostico por Citometría de flujo. (DCF)*
  1. *Definición conceptual: Diagnóstico de citometría de flujo para cada paciente del estudio.*
  2. *Operación: correlación de los resultados con la variable DF*
3. *Nombre: Tipo de muestra.*
  1. *Definición: Tipo de tejido analizado.*
  2. *Operación: Correlación con las variables DCF y DAP*
4. *Nombre: Método de obtención de la muestra.*
  1. *Definición: Cuál es la técnica o maniobra utilizada para la obtención de la muestra.*
  2. *Operación: Correlacionar el método de obtención con el DCF y DAP.*
5. *Nombre: Localización de la muestra.*
  1. *Definición: Lugar de donde la muestra fue obtenida.*
  2. *Operación: Relacionar la localización de la muestra con el DCF y DAP; concomitantemente correlacionar con el método y el tipo de muestra.*
6. *Nombre: Tiempo desde la muestra al procesamiento por citómetro de flujo*
  1. *Definición: Cuantificación del tiempo desde la toma de la muestra hasta el análisis por CF*
  2. *Operación: Cuantificar la demora.*
7. *Nombre: Tiempo desde la muestra hasta el resultado anatomo-patológico.*
  1. *Definición: Cuantificación del tiempo entre la toma de la muestra y el resultado Anatomopatológico.*
  2. *Operación: Cuantificar la demora.*

8. *Nombre: Calidad de la muestra.*

1. *Definición de mala muestra: porcentaje de debris > 60% del total de la muestra (se entiende por debris a la fracción de la muestra que resulta inviable para su valoración)*
2. *Definición de buena muestra: porcentaje de debris < 40% del total de la muestra*
3. *Operación: Correlación con la variable método de obtención de la muestra y localización de la muestra.*