

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA
CARRERA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA**

**DISERTACIÓN DE GRADO PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
BIOQUÍMICA CLÍNICA**

“Estudio piloto para establecer la utilidad del tripolifosfato de sodio (TPF) como anticoagulante de elección en la realización de pruebas hematológicas en un laboratorio de la ciudad de Quito, septiembre a noviembre del 2016”.

NOMBRES

Sandra Carolina López Jiménez

Evelyn Sofía Vivanco Vélez

Director: Dr. Lenin Villalta

QUITO, 2017

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, **SANDRA CAROLINA LÓPEZ JIMÉNEZ**, con C.I. **1723290654**, autora del trabajo de graduación titulado: **“ESTUDIO PILOTO PARA ESTABLECER LA UTILIDAD DEL TRIPOLIFOSFATO DE SODIO (TPF) COMO ANTICOAGULANTE DE ELECCIÓN EN LA REALIZACIÓN DE PRUEBAS HEMATOLÓGICAS EN UN LABORATORIO DE LA CIUDAD DE QUITO, SEPTIEMBRE A NOVIEMBRE DEL 2016”**, previa a la obtención del grado académico de **BIOQUÍMICA CLÍNICA** en la Facultad de Medicina:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.

Quito, 23 de mayo del 2017



Sandra Carolina López Jiménez

C.I. 1723290654

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, **EVELYN SOFÍA VIVANCO VÉLEZ**, con C.I. **1724718372**, autora del trabajo de graduación titulado: **“ESTUDIO PILOTO PARA ESTABLECER LA UTILIDAD DEL TRIPOLIFOSFATO DE SODIO (TPF) COMO ANTICOAGULANTE DE ELECCIÓN EN LA REALIZACIÓN DE PRUEBAS HEMATOLÓGICAS EN UN LABORATORIO DE LA CIUDAD DE QUITO, SEPTIEMBRE A NOVIEMBRE DEL 2016”**, previa a la obtención del grado académico de **BIOQUÍMICA CLÍNICA** en la Facultad de Medicina:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.

Quito, 23 de mayo del 2017



Evelyn Sofía Vivanco Vélez

C.I. 1724718372

DEDICATORIA

Dedicamos este proyecto a Dios por ser el inspirador de cada uno de los pasos dados en nuestro convivir diario; a nuestros padres por ser los guías en el sendero de cada acto que realizamos hoy, mañana y siempre; a nuestra familia y amigos por cada palabra de apoyo y confianza; a nuestro director, el Doctor Lenin Villalta, por entregarnos su tiempo y sus conocimientos para llevar a cabo este sueño; a todos y cada uno de nuestros maestros a lo largo de nuestra vida universitaria por lo enseñado.

Sandra Carolina López Jiménez

Evelyn Sofía Vivanco Vélez

AGRADECIMIENTO

Agradecemos profunda e inmensamente a Dios, por guiarnos en el sendero correcto de la vida, cada día en el transcurso de nuestro camino. A nuestros padres, por su apoyo, por su ejemplo para seguir adelante y por inculcarnos valores que nos han sido fundamentales a lo largo de nuestra vida, gracias por eso y por mucho más.

A nuestro director de tesis, doctor Lenin Villalta, por su paciencia y tiempo dedicado para la realización de este proyecto. Así también a nuestros maestros de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, quienes nos han impartido sus conocimientos y experiencias en el transcurso de nuestra vida estudiantil y que nos ayudaron a convertirnos en excelentes profesionales, y ante todo, en mejores personas.

Al doctor Patricio Yáñez y a la licenciada Martha Gabela quienes confiaron en nosotras y nos brindaron su apoyo para llevar a cabo la parte práctica de nuestro proyecto en las áreas del laboratorio clínico y banco de sangre del Hospital Carlos Andrade Marín. A Ximena Vásquez por su asesoría y apoyo

A José Luis y Paúl por ser parte importante en nuestras vidas, gracias por su amor, su paciencia y por su apoyo incondicional, por darnos el ánimo para culminar con éxito esta investigación.

A nuestros amigos, amigas y demás personas que nos incentivaron y nos motivaron a seguir adelante para hacer de este sueño, una realidad.

TABLA DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN.....	ii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
TABLA DE FIGURAS Y GRÁFICOS.....	viii
TABLA DE ANEXOS.....	ix
LISTA DE ABREVIATURAS	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT	xii
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I.....	3
1.1 Planteamiento del problema	3
1.2 Justificación	5
1.3 Objetivos	7
1.3.1 Objetivo General.....	7
1.3.2 Objetivos Específicos	7
1.4 Limitaciones del Estudio	7
CAPÍTULO II.....	8
MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL.....	8
2.1 Antecedentes.....	8
2.2 Marco Teórico.....	11
2.2.1 Anticoagulantes	11
2.2.2 Alteraciones dependientes de EDTA	12
2.2.3 Biometría hemática: utilidad clínica.....	15
2.2.4 Metodología.....	16
2.2.5 Variaciones y limitaciones de la biometría hemática	18
2.2.6 Frotis sanguíneo.....	20
2.3 Marco Conceptual.....	23
CAPÍTULO III.....	27
MARCO METODOLÓGICO	27
3.1 Diseño del estudio.....	27
3.2 Población.....	27
3.3 Muestra, tamaño muestral y selección.....	27
3.3.1 Muestra	27
3.3.2 Tamaño muestral.....	27
3.3.3 Selección de muestra	29

3.4	Operacionalización de variables	29
3.4.1	Variables dependientes	29
3.4.2	Variables independientes	29
3.5	Obtención de información y toma de muestra biológica	31
3.5.1	Recolección de muestras sanguíneas	31
3.5.2	Conservación de las muestras.....	32
3.6	Procedimiento de laboratorio	32
3.6.1	Análisis de muestras de sangre total	32
3.6.2	Análisis morfológico de los frotis sanguíneos.....	34
3.7	Control de calidad.....	35
3.7.1	Control de calidad de balanza	36
3.7.2	Control de calidad de pipetas	36
3.7.3	Control de calidad del equipo hematológico Sysmex XT 1800i.....	36
3.7.4	Control de Temperatura.....	36
3.7.5	Control de calidad del anticoagulante preparado	37
3.8	Manejo de la información y análisis de datos.....	39
CAPÍTULO IV		40
RESULTADOS		40
4.1	Descripción de la muestra	40
4.1.1	Distribución de la muestra por género, edad y patología	40
4.2	Correlación de los parámetros estudiados con el tipo de anticoagulante y el tiempo	41
4.3	Valoración de morfología celular.....	44
DISCUSIÓN.....		49
CONCLUSIONES		50
RECOMENDACIONES.....		52
BIBLIOGRAFÍA.....		53
ANEXOS.....		61

TABLA DE FIGURAS Y GRÁFICOS

Gráfico 1: Principio de medición de eritrocitos y plaquetas.

Gráfico 2: Principio de medición y diferenciación de leucocitos.

Gráfico 3: Total de pacientes que acudieron al banco de sangre y al laboratorio clínico del HCAM según el género.

Gráfico 4: Total de pacientes que acudieron al banco de sangre y al laboratorio clínico del HCAM según la edad.

Gráfico 5: Medias de cada parámetro en función del tiempo y anticoagulante.

Gráfico 6: Distribución de los frotis observados según la existencia de alteración.

Gráfico 7: Cambios morfológicos según el anticoagulante empleado.

TABLA DE ANEXOS

Anexo 1: Consentimiento Informado

Anexo 2: Solicitud de autorización del Hospital "Carlos Andrade Marín"

Anexo 3: Solicitud de autorización de recolección de muestras Banco Sangre

Anexo 4: Certificado de calibración Balanza Analítica BOECO

Anexo 5: Certificado de calibración Pipeta HUMAN 100 uL

Anexo 6: Verificación Pipeta HUMAN 100 uL

Anexo 7: Verificación Pipeta 5 uL

Anexo 8: Calificación Equipo Sysmex XT 1800i

Anexo 9: Calibración Equipo Sysmex XT 1800i

Anexo 10: Controles Hematológicos

Anexo 11: Gráficos de Controles de Calidad internos

Anexo 12: Registro de temperatura Ambiente

Anexo 13: Registro de Temperatura Refrigeradora

Anexo 14: Control de Calidad tubos

Anexo 15: Hoja de Evaluación de Morfología Celular

Anexo 16: Tablas de variabilidad inter e intraobservador

LISTA DE ABREVIATURAS

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

EDTA: Ácido Etilendiaminotetraacético

EDTA-PTCP: Pseudotrombocitopenia dependiente de EDTA

HB: Hemoglobina

HCT: Hematocrito

ICSH: International Council for Standardization in Haematology

IGIV: Inmune Globulin Intravenous

LMC: Leucemia mieloide crónica

PLT: Plaquetas

RBC: Recuento de glóbulos rojos

TPF: Tripolifosfato de sodio

WBC: Recuento de glóbulos blancos

RESUMEN

Estudio piloto para establecer la utilidad del tripolifosfato de sodio (TPF) como anticoagulante de elección en la realización de pruebas hematológicas en un laboratorio de la ciudad de Quito, septiembre a noviembre del 2016.

El objetivo de este estudio fue establecer la utilidad del tripolifosfato de sodio (TPF) como anticoagulante en determinaciones hematológicas en seres humanos. Se analizaron muestras de sangre venosa, procedentes de 272 participantes entre donantes de sangre, pacientes diagnosticados con diabetes mellitus tipo 2 y pacientes provenientes del servicio de hematología del Hospital "Carlos Andrade Marín" (HCAM). Dichas muestras fueron anticoaguladas con TPF al 5% p/v, sales tripotásicas de EDTA y citrato de sodio al 3.2%. Las muestras anticoaguladas con EDTA fueron utilizadas como controles para el conteo de eritrocitos, conteo de leucocitos, hemoglobina y hematocrito, mientras que, las muestras anticoaguladas con citrato de sodio fueron utilizadas como controles para el conteo de plaquetas. Al comparar los valores obtenidos en todas las pruebas realizadas se encontró que la sangre anticoagulada con TPF ofreció resultados similares a las tratadas con EDTA en 4 de los 5 parámetros estudiados, sin embargo se encontraron diferencias significativas en el conteo de plaquetas entre los 3 anticoagulantes en comparación, el TPF arrojó la media más baja ($243 \times 10^9/\text{mm}^3$) en comparación con el EDTA ($266 \times 10^9/\text{mm}^3$) y el citrato de sodio ($290 \times 10^9/\text{mm}^3$), lo que limita el uso del TPF como anticoagulante en el área de Hematología. No obstante, a nivel morfológico no se evidenciaron diferencias o alteraciones relevantes. Se concluye que, en efecto, el TPF tiene propiedades anticoagulantes importantes y puede ser empleado en la determinación manual de parámetros como RBC, WBC, Hemoglobina y Hematocrito, así también la valoración microscópica de la morfología celular; sin embargo de acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio, no se recomienda el uso de TPF para la determinación del número de plaquetas, por lo que se sugiere la realización de nuevos estudios para confirmar este resultado. Por lo tanto la utilidad del TPF radica en laboratorios de primer nivel, siempre que las muestras se mantengan a temperatura ambiente y el tiempo de procesamiento sea menor a 4 horas.

Palabras clave: anticoagulante, tripolifosfato de sodio, determinaciones hematológicas, morfología sanguínea.

ABSTRACT

A pilot study to establish the usefulness of sodium tripolyphosphate (TPF) as an anticoagulant of choice in the performance of hematological tests in a laboratory in Quito, September to November, 2016.

The aim of this study was to establish the usefulness of sodium tripolyphosphate (TPF) as an anticoagulant in hematological determinations in humans. Venous blood samples from 272 participants among blood donors, patients diagnosed with type 2 diabetes mellitus and patients from the hematology department of the Carlos Andrade Marín Hospital (HCAM) were analyzed. These samples were anticoagulated with 5% w/v TPF, tripotassium salts of EDTA and 3.2% sodium citrate. EDTA anticoagulated samples were used as controls for erythrocyte counts, leukocyte counts, hemoglobin and hematocrit, while anticoagulated samples with sodium citrate were used as controls for platelet counts. When comparing the values obtained in all tests performed, there was found that TPF anticoagulated blood presented results similar to those treated with EDTA in 4 of the 5 parameters studied. However, significant differences were found in the platelet count among the 3 anticoagulants in comparison, TPF showed the lowest mean ($243 \times 10^9 / \text{mm}^3$) compared to EDTA ($266 \times 10^9 / \text{mm}^3$) and sodium citrate ($290 \times 10^9 / \text{mm}^3$), which limits the use of TPF as anticoagulant in the area of Hematology. However, at the morphological level no relevant differences or alterations were found. It is concluded that, in fact, TPF has important anticoagulant properties and it can be used in the manual determination of parameters such as RBC, WBC, Hemoglobin and Hematocrit, as well as the microscopic evaluation of cellular morphology. However, according to the results obtained in this study, the use of TPF is not recommended for the determination of the number of platelets, so it is suggested to carry out new studies to confirm this result. Therefore, the usefulness of the TPF lies in first level laboratories, provided that the samples are kept at room temperature and the processing time is less than 4 hours.

Key words: anticoagulant, sodium tripolyphosphate, hematological determinations, blood morphology.

INTRODUCCIÓN

La biimetría hemática sin lugar a dudas constituye uno de los perfiles de exámenes de laboratorio más solicitados por los médicos, esto debido a que aporta gran cantidad de información sobre el estado de salud del paciente, puede orientar al diagnóstico de diversas patologías hematológicas, así como contribuir en el control de tratamientos previamente instaurados. (Campuzano-Maya, 2013).

En la actualidad en el área de hematología existen diferentes tipos de anticoagulantes, dentro de los más usados están el ácido etilendiaminotetracético (EDTA), empleado para realizar biimetría hemática y el citrato de sodio para el estudio de tiempos de coagulación (Estudillo, 2014) (Bowen y Remaley, 2014). Sin embargo, es bien conocido que tanto el EDTA dipotásico (K_2) como tripotásico (K_3) que constituyen las formas más usadas de este anticoagulante, generan alteraciones tanto en morfología como en los contajes celulares, es así que un resultado errado obtenido en un examen tan importante, además de no generar ninguna utilidad clínica, conlleva a la realización de estudios diagnósticos y otros procedimientos más profundos de forma innecesaria. (Neunert et al, 2011)

En el caso particular de los recuentos plaquetarios, se conoce que el EDTA puede causar, entre otras alteraciones, pseudotrombocitopenia EDTA-dependiente por lo que una falsa trombocitopenia puede ocasionar la realización de procedimientos como esplenectomía, instauración de tratamientos con inmunoglobulina intravenosa, transfusión de diversos hemocomponentes, biopsia de médula ósea e incluso ha conllevado a la postergación de intervenciones quirúrgicas. Sin embargo, también puede causar alteraciones cualitativas y cuantitativas en eritrocitos y leucocitos. (Senthilkumaran, Menezes, Jena, y Thirumalaikolundusubramanian, 2013) (Patel, 2009)

Por estas razones, durante los últimos años se han realizado varios estudios cuya finalidad fue encontrar un nuevo anticoagulante que permita reemplazar al EDTA. Es así que en este estudio se planteó al tripolifosfato de sodio como opción alternativa, el mismo que podría sustituir también al citrato de sodio, permitiendo realizar con una misma muestra biimetrías hemáticas, así como tiempos de coagulación para valorar la hemostasia de un individuo, lo que permitiría reducir de forma considerable el volumen de sangre extraída por paciente. (Rangel Matos et al, 2009).

La finalidad de realizar este estudio, fue probar si el TPF puede reemplazar al EDTA como anticoagulante de elección en el área de hematología. Se analizaron muestras conservadas a temperatura ambiente en dos tiempos diferentes, valorando contajes celulares y morfología celular. Se obtuvo que las medias obtenidas en muestras tratadas con EDTA y TPF son similares para RBC, WBC, HB y HCT, siempre que las muestras hayan sido procesadas dentro de la primera hora después de haber sido recolectadas. Los contajes plaquetarios presentaron diferencias estadísticamente significativas, las medias con TPF fueron más bajas que las medias obtenidas con EDTA y citrato de sodio. Con respecto al procesamiento de las muestras en dos tiempos diferentes, se determinó que los valores obtenidos para todos los parámetros en estudio fueron más bajos al procesar las muestras en un tiempo posterior a las 4 horas de haber sido recolectadas, tanto con EDTA como con TPF. Con relación a la morfología celular, se comprobó que el TPF se compara con el EDTA, ya que no se evidenciaron cambios en la tinción ni en la morfología celular a nivel de coloración y estructuras celulares. No obstante, se presentaron alteraciones morfológicas como equinocitos y macrocitos en RBC, vacuolización del citoplasma, multilobulación y linfocitos atípicos en células leucocitarias y en plaquetas se observaron agregados plaquetarios, macroplaquetas e hipogranularidad en frotis de muestras con EDTA y TPF.

CAPÍTULO I

1.1 Planteamiento del problema

Los problemas que genera el EDTA, tanto dipotásico (K_2) como tripotásico (K_3), a nivel morfológico, principalmente, han sido ampliamente estudiados. Es así, que la norma H26-A2 en su segunda edición publicada por el CLSI en el 2010, explica que las células sanguíneas son susceptibles a algunos efectos de los anticoagulantes, como la agregación plaquetaria dependiente de EDTA, lo que puede generar pseudotrombocitopenia en equipos automatizados con una consecuente pseudoleucocitosis. De la misma forma se ve afectado el conteo de glóbulos blancos, pudiendo darse casos de pseudoleucopenia, el volumen corpuscular medio de los eritrocitos puede aumentar, generando pseudomacrocitosis. (Rabonovitch et al, 2010).

También se ha demostrado que, el parámetro más susceptible de variación al usar sangre con EDTA es el conteo de plaquetas. (Shrestha y Karki, 2014). Como ya se mencionó antes, una falsa disminución del número de plaquetas, puede implicar la realización de estudios invasivos e innecesarios, ocasionando gastos adicionales y malestar en los pacientes. Cabe recalcar que la pseudotrombocitopenia dependiente de EDTA no se ha relacionado de forma significativa con ninguna patología en particular, pero se ha reportado en pacientes con daño hepático, trastornos autoinmunes, enfermedad cardíaca, neoplasias, entre otras. (Carrillo-Esper y Contreras-Domínguez, 2004).

Todas estas alteraciones a nivel cualitativo como cuantitativo son apreciables al realizar la valoración microscópica del frotis de sangre periférica, lo que puede ocasionar confusión en el analista debido a que puede resultar complicado determinar si la presencia de una o varias alteraciones se deba a una posible patología propia del paciente o a un fenómeno *in vitro* ocasionado por el uso de EDTA como anticoagulante. (Bahadir et al, 2012) (Xiao y Xu, 2015).

La biometría hemática es un perfil que evalúa de forma cuantitativa y cualitativa las células sanguíneas, contribuyendo con el diagnóstico de diversas patologías y brindando apoyo al seguimiento de tratamientos prescritos. Esto hace que, la biometría sea una de las principales y más demandadas pruebas de laboratorio, por lo tanto, es importante garantizar resultados veraces y oportunos; los mismos que se logran al trabajar con un

anticoagulante óptimo, un equipo bien controlado y personal capacitado. (Díaz Piedra, Olay Fuentes, Hernández Gómez et al, 2012).

Actualmente en distintos laboratorios del país se emplean tubos de extracción de sangre de 2 marcas principales: BD Vacutainer y Vacuette. La adquisición de tubos de una u otra marca se basa en factores como costos y/o disponibilidad inmediata de los productos. Particularmente, en el área de hematología y coagulación se encuentran disponibles tubos de BD vacutainer que contienen EDTA K2 mientras que, los tubos tapa lila de Vacuette contienen EDTA K3. Así mismo, en el área de coagulación se manejan tubos de las 2 marcas mencionadas previamente, donde la concentración del citrato de sodio en ambos casos es 3.2% y la variable entre éstos radica en el volumen de muestra a recolectar.

Pregunta del problema: ¿Qué beneficios traerá para la determinación de biometrías hemáticas y la valoración de morfología celular en sangre periférica la introducción de un nuevo anticoagulante?

1.2 Justificación

Los resultados errados obtenidos en biometrías hemáticas además de no ofrecer ninguna utilidad clínica, ocasionan la realización de estudios y procedimientos específicos y más profundos de forma innecesaria. En el caso específico de las plaquetas, una falsa trombocitopenia puede ocasionar la realización de procedimientos como esplenectomía, instauración de tratamientos con inmunoglobulina intravenosa (IGIV, del inglés immune globulin intravenous); pudiendo llegar a ejecutar procedimientos más peligrosos e invasivos como la transfusión de diversos hemocomponentes, biopsia de médula ósea e incluso se han llegado a postergar intervenciones quirúrgicas. (Neunert et al, 2011) (Senthilkumaran, Menezes, Jena, y Thirumalaikolundusubramanian, 2013).

En el estudio realizado por Rangel, se obtuvieron resultados orientativos hacia una clara alternativa que puede suplir al EDTA ya que además de ser útil para determinar parámetros cuantitativos también demostró tener la capacidad de conservar la morfología celular, misma que fue valorada mediante microscopía óptica a partir de frotis de sangre periférica. La acción anticoagulante del TPF se basa en inhibir la agregación plaquetaria e intervenir en la cascada de la hemostasia ya que tiene la capacidad de quelar los iones de calcio libres (Ca^{2+}); es por ello que ha sido ampliamente utilizado para la obtención de plasma animal. (Maczy et al, 2007) (Rangel et al, 2009).

También hay constancia de otro estudio realizado en pacientes con leucemia mieloide crónica (LMC) dónde se analizaron parámetros hematológicos en sangre tratada con EDTA y TPF. Los resultados microscópicos no evidenciaron diferencias morfológicas relevantes intrabobservador ni interobservador en ninguna serie celular estudiada. Adicionalmente, los parámetros hematológicos analizados en sangre tratada con TPF fueron similares a los obtenidos con las muestras tratadas con EDTA. Con esto se concluyó que el TPF tiene una eficacia similar a la que ofrece el EDTA, por lo que se puede considerar al TPF como un anticoagulante alternativo a ser empleado en los laboratorios clínicos para la realización de pruebas hematológicas en pacientes con LMC. (Rangel, Avendaño, Guanipa, Ruiz, Quintero, Briceño, Nava y Herrera, s.f.).

En los estudios realizados, se utilizaron equipos automatizados como el Cell Dyn 1700 y Cell Master 750 Hematology Analyzer. En ninguno de los casos se reportó algún tipo de incompatibilidad de la muestra con el analizador, lo que representa una ventaja importante tomando en cuenta que hoy en día un gran porcentaje de laboratorios clínicos trabajan con equipos automatizados. (Rangel et al, 2009) (Rangel, s.f.).

Por estas razones, es necesario realizar estudios que permitan encontrar un componente capaz de reemplazar al clásico anticoagulante EDTA por otra opción como el TPF, el cual podría sustituir también al citrato de sodio, permitiendo realizar con una misma muestra biometrías hemáticas y ensayos para valorar hemostasia como tiempos de coagulación, lo que permitiría reducir de forma considerable el volumen de sangre extraída por paciente. (Rangel Matos et al, 2009).

Con el afán de encontrar un anticoagulante que cumpla con los requisitos para ser usado en hematología y que no produzca los efectos que se han demostrado ser causados por el uso de EDTA, se plantea el estudio del TPF como anticoagulante alternativo a ser empleado para realizar pruebas hematológicas en seres humanos.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

- Establecer la utilidad del TPF al ser usado como anticoagulante para realizar determinaciones hematológicas en pacientes diagnosticados con diabetes mellitus tipo II, pacientes con trastornos hematológicos y personas sanas aptas para donar sangre, en un laboratorio de la ciudad de Quito en el período de septiembre a noviembre del 2016.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Obtener a partir de las muestras recolectadas, los valores de hemoglobina, hematocrito, conteo de eritrocitos, conteo de leucocitos en sangre total anticoagulada con EDTA K₃ y TPF.
- Determinar los valores del conteo de plaquetas en muestras de sangre total anticoaguladas con EDTA K₃, citrato de sodio al 3,2% y TPF.
- Relacionar estadísticamente si existen diferencias significativas en los resultados obtenidos a partir de las muestras recolectadas con EDTA K₃, citrato de sodio al 3,2% y TPF, en los 5 parámetros estudiados.
- Evaluar diferencias morfológicas en eritrocitos, leucocitos y plaquetas a partir de los frotis de sangre periférica realizados de sangre con EDTA K₃ y TPF, teñidos con Wright.

1.4 Limitaciones del Estudio

Una de las principales limitaciones del estudio es la poca información acerca del anticoagulante en estudio, pese a que existen estudios previos, éstos no proporcionan información relevante para nuestro estudio. Así como el hecho de no contar con información actualizada que contribuya a la realización de este estudio. Otra limitación es la población, debido a que la prevalencia de personas con trastornos hematológicos que afecten a las 3 líneas celulares es muy baja, por lo tanto, se trabajará con pacientes diagnosticados con cualquier trastorno hematológico.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

2.1 Antecedentes

El citrato de sodio al 3,2% y 3,8% así como el EDTA K_2 y K_3 son anticoagulantes esenciales para inhibir la coagulación sanguínea, descubiertos en 1914 y 1941, respectivamente. (Bain, 2012). Su acción radica en la capacidad de precipitar el calcio formando cristales insolubles. El EDTA es usado para determinar parámetros hematológicos y el citrato de sodio se emplea para realizar pruebas de coagulación sanguínea. (Estudillo, 2014).

Sin embargo, en el 2009 Patel publicó que el EDTA causa daños irreversibles a nivel estructural, bioquímico y funcional tanto de plaquetas como de eritrocitos y leucocitos. La alteración dependiente de EDTA más importante y clínicamente significativa, descrita desde 1973, es la pseudotrombocitopenia por agregación plaquetaria y en menor proporción por satelitismo plaquetario. (Fang, 2015). Estos fenómenos se han descrito en pacientes sanos y con diversas patologías, sin embargo, no se ha demostrado que exista una relación significativa con ninguna patología específica; así como tampoco se ha encontrado relación con el género o la edad de los pacientes. (Tomicic, 2015).

Debido a que la incidencia de estos fenómenos es relativamente baja, el personal de laboratorio clínico se encuentra poco familiarizado con estas alteraciones, por lo que puede cometer errores en el reporte del resultado y el paciente puede ser sometido a procesos injustificados y muchas veces riesgosos para su salud. Casos descritos previamente mencionan transfusiones de concentrados plaquetarios, biopsia de médula ósea, esplenectomía, postergación de procedimientos quirúrgicos, así como tratamientos con inmunoglobulina intravenosa, corticoesteroides, trombopoyetina y factores de crecimiento como formas de diagnosticar y tratar una disminución de plaquetas. (Kim, 2012).

En el 2013, se publica el caso de un paciente preoperatorio con pseudotrombocitopenia que no fue detectada y por ende la cirugía fue cancelada. Posteriormente, se repitió el análisis a partir de una muestra con citrato de sodio donde el valor de plaquetas era normal. (Senthilkumaran, 2013). En otro caso reportado en el 2014, se menciona a una mujer cuyo número de plaquetas era de 49500/uL. Se logró evitar la transfusión de

concentrados plaquetarios gracias al oportuno diagnóstico realizado a partir de la visualización del frotis de sangre periférica. (Fang, 2015).

Otros estudios que hacen referencia a alteraciones de serie eritroide y leucocitaria incluyen el caso reportado por Vagace en el 2013, quien investigó la pseudomacrocitosis dependiente de EDTA en una niña de 14 años. Éste es un fenómeno muy raro y aunque el mecanismo exacto es desconocido, se atribuye a la presencia de autoanticuerpos de tipo IgM capaces de inducir macrocitosis cuando la muestra tiene contacto con EDTA. También en el 2013, se reportó el caso de un paciente de 50 años, quien presentó presuntamente leucopenia, sin embargo, en la revisión microscópica del frotis se aparentaba un número normal de leucocitos y se evidenció la presencia de agregados neutrofílicos debido a la presencia del EDTA. (Nayak, 2013).

Con los fenómenos descritos previamente y su poca significancia clínica, el EDTA sigue siendo considerado un anticoagulante óptimo para contajes celulares y el diferencial leucocitario. No obstante, como ya se evidenció existe una gran cantidad de estudios que indican que este compuesto está muy lejos de lograr una preservación adecuada de las células sanguíneas. (Olteanu, 2015).

Como se mencionó anteriormente, una de las técnicas para confirmar cualquier resultado anómalo es el estudio microscópico del frotis de sangre periférica ya que aún constituye una piedra angular dentro del área de hematología. Si bien es cierto que la automatización del laboratorio clínico tiene importante relevancia en estos días, el estudio de un frotis de sangre periférica cumple un rol importante ya que nos permite realizar un control de las muestras patológicas que en muchas ocasiones resulta indispensable para poder confirmar el resultado y que éste le sea útil clínicamente al médico.

Tomando en cuenta la presencia de los fenómenos antes mencionados y con el fin de que se realicen los exámenes hematológicos de manera óptima, es importante tomar en cuenta y aplicar ciertas recomendaciones dadas por organismos internacionales. El International Council for Standardization in Haematology (ICSH) establece que se debe considerar como "fresca" y útil a una muestra anticoagulada con EDTA, si ésta tiene menos de 4 horas de haber sido recolectada, transcurrido este tiempo es posible evidenciar cambios tanto cualitativos como cuantitativos en las células debido a factores como la temperatura de conservación de la muestra. (Rabonovitch, 2010)

Actualmente, muchos laboratorios, por su carga de trabajo, no realizan frotis sanguíneos inmediatamente después de haber recolectado la muestra sino hasta que el equipo

automatizado arroja una alarma que necesita ser revisada. Hasta ese momento, es probable que hayan pasado entre 4 y 6 horas y que esa muestra, ya no sea óptima para realizar un nuevo estudio sanguíneo ya que es probable que aparezcan alteraciones de tipo cualitativo, principalmente. (Rabonovitch, 2010)

Se destacan los estudios realizados por Kumura en el 2000, en los cuales se probó la actividad anticoagulante de compuestos como la hirudina, DX-9065a y el argatroban mediante la realización de biometrías hemáticas, tiempos de coagulación y química sanguínea. Los resultados obtenidos no fueron los esperados, ya que se encontraron diferencias significativas en algunos de los parámetros estudiados. (Kumura, 2000)

En un estudio publicado sobre el TPF, como anticoagulante, en el año 2009, se realizaron biometrías hemáticas y tiempos de coagulación utilizando como controles muestras con EDTA y citrato de sodio. Los resultados indicaron que no existen diferencias en los parámetros evaluados; excepto en el valor de plaquetas que fue evidentemente superior en las muestras tratadas con TPF. También se valoró morfología celular, la misma que no arrojó diferencias entre un frotis y otro, lo que sugiere que el anticoagulante en estudio conserva, al igual que el EDTA, la morfología celular. (Rangel, 2009).

Por lo tanto, se concluyó que es posible utilizar el TPF para realizar biometrías y tiempos de coagulación, lo que implicaría una disminución en la cantidad de sangre extraída al paciente, así como reducir el uso de insumos en los laboratorios. (Rangel, 2009). Sin embargo, este estudio deja interrogantes sobre la recolección y procesamiento de muestras, concordancia en la valoración del frotis sanguíneo, así como tampoco se puede concluir que la estimación de plaquetas con TPF fue la correcta, ya que no se menciona comparación con muestras tratadas con citrato de sodio, que son consideradas como muestras gold estándar para cuantificar plaquetas.

Consideramos relevante aportar nuevos datos sobre el uso de anticoagulantes alternativos en el área de hematología dado que, desde el 2009 hasta la fecha, no se han publicado estudios sobre los anticoagulantes previamente analizados y tampoco se han estudiado nuevos compuestos con dicho fin.

2.2 Marco Teórico

2.2.1 Anticoagulantes

Anticoagulantes usados en hematología

En hematología existen diferentes tipos de anticoagulantes, mismos que se emplean dependiendo de la investigación que se esté llevando a cabo o de la prueba que se desee realizar. Dentro de los anticoagulantes más usados en el área de hematología están el EDTA y el citrato de sodio. (Estudillo, 2014)

Ácido Etilendiaminotetraacético (EDTA)

El EDTA por medio de la quelación de los iones de calcio ejerce un efecto anticoagulante, debido a que impide que éstos se ionicen. El ICSH recomienda este anticoagulante para el recuento de células sanguíneas, análisis diferencial de glóbulos blancos y de la morfología de células sanguíneas. (Rabonovitch et al, 2010).

Asimismo, el ICSH exhorta al uso de la sal dipotásica de EDTA como anticoagulante ya que, la sal tripotásica al ser dispensada en forma líquida causa una ligera hemodilución en la muestra; también se ha demostrado que afecta el tamaño de los eritrocitos. Es así que el EDTA causa cambios morfológicos en las células sanguíneas, ya sea por encontrarse en altas concentraciones o por la relación entre este anticoagulante con la temperatura de almacenamiento de la muestra y el tiempo. (Patel, 2009).

Entre las alteraciones que causa este anticoagulante se incluye pseudotrombocitopenia, pseudoleucocitosis, pseudoneutropenia, pseudomacrocitosis y otras alteraciones cualitativas de las 3 líneas celulares. (Antwi, 2013)

Citrato de sodio

Actualmente, al citrato de sodio se le considera el anticoagulante de elección para realizar pruebas de hemostasia y eritrosedimentación. Se emplea este anticoagulante para realizar la valoración de plaquetas, debido a que mejora su secreción e impide la formación de microagregados plaquetarios, sin embargo, presenta poca eficacia para preservar células sanguíneas además de causar dilución de la muestra, razones por las que no puede ser empleado para realizar biometrías hemáticas. Es por todo lo antes mencionado que se considera a este anticoagulante como el estándar de oro para

realizar la confirmación de los valores de plaquetas disminuidos (casos de pseudotrombocitopenia). (Bain, Lewis, y Dacie, 2012) (Turgeon, 2012)

Tripolifosfato de sodio (TPF)

EL TPF es una sustancia inodora, de color blanco, tiene un pH alcalino, no es volátil y posee gran solubilidad en agua pese a tener un alto peso molecular (367.87 g/mol). Es considerado un compuesto no tóxico, no inflamable, ni irritante además no genera daños ambientales ya que, en contacto con suelos o aguas, el TPF puede ser absorbido por las plantas y emplearlo como un nutriente esencial. (Palmeira de Oliveira et al., 2011)

Se considera una sustancia no tóxica, empleada previamente como conservante alimenticio, también se han fabricado detergentes industriales por su poder de secuestrar y dispersar la suciedad, ablandadores de agua y en los últimos años se ha descubierto que este compuesto es un potente anticoagulante, por lo que ha sido utilizado en la obtención de plasma animal. (Mayer, Bertoluzzo, y Bertoluzzo, 2012)

Su poder anticoagulante proviene de su capacidad de unirse a los iones de calcio e impedir que éstos intervengan en el proceso de coagulación sanguínea. En los últimos años se han investigado las propiedades anticoagulantes de esta sustancia y se considera que puede usarse como una alternativa a los anticoagulantes que se emplean en el área de hematología (EDTA y citrato de sodio). (Rangel, 2009) (Maczy et al, 2007)

Rangel concluyó en sus dos estudios que este anticoagulante puede ser empleado para realizar biometrías hemáticas y tiempos de coagulación, sin encontrar diferencias de ningún tipo en los análisis cualitativos y cuantitativos de las muestras analizadas con EDTA, TPF y Citrato de Sodio. Esto sumado a su bajo perfil tóxico y menor costo con respecto a otros anticoagulantes, esta sustancia se podría recomendar como un anticoagulante alternativo, para ser utilizado en análisis de parámetros hematológicos en el laboratorio clínico. (Rangel, 2009)

2.2.2 Alteraciones dependientes de EDTA

2.2.2.1 *Alteraciones plaquetarias*

Pseudotrombocitopenia por agregación plaquetaria (EDTA-PTCP)

Éste es un fenómeno *in vitro* observado en los laboratorios con una incidencia de entre 0.09 y 0.21%. Esta alteración puede presentarse tanto en pacientes hospitalizados como en pacientes de consulta externa. (Marco-Schulkea, et al., 2012).

El mecanismo implicado según varios autores, se debe a la presencia de autoanticuerpos presentes en el plasma dirigidos contra la glucoproteína IIb. El complejo glucoproteico IIb/IIIa se encuentra en la membrana de la plaqueta y necesita la presencia de calcio para mantener su estructura funcional. El EDTA al quelar el calcio produce la disociación del complejo, dejando así expuestos los epítopes de la glucoproteína IIb, los cuales se unirán con sus respectivos autoanticuerpos, produciendo así la aglutinación plaquetaria. (Oza, Ingole, y Gangane, 2014) (Fang, Chien, Yang, Lu, y Lin, 2015).

Para confirmar que un paciente tiene pseudotrombocitopenia dependiente de EDTA es importante valorar el número de plaquetas a partir de una muestra anticoagulada con citrato de sodio y mediante la revisión microscópica del frotis, se puede apreciar la presencia de agregados plaquetarios. Una situación que suele acompañar a este cuadro es la pseudoleucocitosis, al existir un mimetismo en el volumen celular que el equipo generalmente contabiliza como linfocitos. (Bahadir, Erduran, Dilber, y Ucuncu, 2012) (Xiao, Yu, y Xu, 2015).

Pseudotrombocitopenia por satelitismo plaquetario

Es una alteración poco frecuente, descrita por primera vez en 1964 por Field y Macleod, se caracteriza por la distribución que toman las plaquetas alrededor de los leucocitos, esto se puede apreciar en frotis de sangre periférica anticoagulada con EDTA, que al parecer, es el inductor de este fenómeno. (Milevoj Kopcinovic y Pavic, 2012). Su presencia no se asocia con ningún proceso patológico, pero ha sido encontrado de forma incidental en mujeres embarazadas o pacientes que cursen procesos autoinmunes, tromboembolismo, etc.; tampoco se ha demostrado una asociación con la edad del paciente. (Kishore, Nayak, y Manohar, 2014).

El mecanismo implicado no ha sido entendido por completo, pero evidencia previa sugiere la presencia de autoanticuerpos dirigidos contra el receptor Fc del neutrófilo y contra el complejo glucoproteico IIb/IIIa que se localiza en la membrana plaquetaria (Sudha y Koshy, 2013). Kishore en el 2014 menciona otra posible teoría que fue postulada por Vondem Borne en 1986 y hace referencia a la presencia de antígenos ocultos en el complejo glucoproteico IIb/IIIa, mecanismo que aparentemente es el mismo

que ocasiona la pseudotrombocitopenia por agregación plaquetaria, descrito previamente.

Un mecanismo no inmunológico descrito por Chakrabarti (2014), involucra a los gránulos alfa de las plaquetas, mismos que se expresan de forma inmediata ante un estímulo activador, que puede ser la presencia de EDTA, favoreciendo así la adhesión de las plaquetas a los neutrófilos. (Kishore, Nayak, y Manohar, 2014).

2.2.2.2 Eritrocitos: cambios cuantitativos y cualitativos

Uno de los fenómenos que causa el EDTA sobre la línea eritroide, es la pseudomacrocitosis, que se produce por la presencia de una aglutinina fría dependiente de EDTA, misma que tiene la capacidad de unirse a los antígenos ocultos que se encuentran en la membrana del eritrocito ocasionando que los mismos aglutinen, esto genera que el equipo automatizado reconozca varios eritrocitos como una sola célula, disminuyendo así el conteo de glóbulos rojos con un consecuente aumento del VCM, su presencia puede evidenciarse mediante la correcta interpretación del histograma. (Vagace et al, 2013)

Como consecuencia del uso de EDTA, las células rojas llegan a encogerse debido a la hipertonidad del plasma, esto pueden crear artefactos que no permiten realizar una correcta interpretación de la morfología de los eritrocitos, además afecta a la membrana de las células, por lo cual se puede evidenciar en el frotis sanguíneo esferocitos y equinocitos. (Patel, 2009)

2.2.2.3 Alteraciones leucocitarias

Alteraciones cualitativas

Patel hace referencia en el 2009 a la presencia de vacuolización en los monocitos y neutrófilos después de una hora de recolectada la muestra; esta alteración es más notoria conforme el tiempo de almacenamiento se prolonga. (Patel, 2009).

Un estudio realizado en el 2014 donde se estableció que alteraciones como la fragmentación citoplasmática y la degranulación celular se generan de forma más temprana independientemente de la temperatura de almacenamiento. También se reportaron otras alteraciones como agregaciones de cromatina, vacuolización citoplasmática o linfocitos atípicos; todos estos cambios fueron más evidentes conforme

el período de almacenamiento aumentaba, sin importar la temperatura de almacenamiento. (Vives-Corróns et al, 2014)

Alteraciones cuantitativas: Pseudoleucopenia

El valor de leucocitos puede verse erróneamente disminuido por agregación leucocitaria, en la mayoría de casos involucra a neutrófilos, aunque también puede haber agregación de linfocitos, monocitos e incluso granulocitos inmaduros. La explicación del porque el analizador hematológico puede arrojar un valor disminuido de leucocitos se basa en el tamaño de los agregados ya que, si el número de células agregadas supera el límite de detección del equipo, éste no contabilizará ninguna célula. Si el agregado es pequeño y no supera el límite de detección del analizador, se contabilizará como una sola célula. (Gupta, Nayak, Manohar, y Belurkar, 2014).

La mayoría de este tipo de casos se da en pacientes con neoplasias, infecciones o trastornos hepáticos, no obstante, se han descrito casos en personas sanas y se cree que el mecanismo involucrado, al igual que en la aglutinación eritrocitaria, es por autoanticuerpos dependientes de EDTA. Sin embargo, también se ha presentado en muestras tratadas con citrato de sodio y heparina. (Kottke-Marchant y Davis, 2012) (Nayak, Patil, y Dhakal, 2013).

2.2.3 Biometría hemática: utilidad clínica

El análisis automatizado de células sanguíneas es considerado la piedra angular del laboratorio moderno de hematología, lo que permite un rápido, rentable y preciso análisis de las células constituyentes de la sangre. (Kaushansky, y otros, 2016).

Constituye uno de los exámenes más solicitados en el laboratorio por la gran información que aporta al médico sobre la homeostasis de un individuo. Si el estudio se interpreta adecuadamente puede orientar al diagnóstico de patologías como anemias, leucemias, policitemias, etc.; además de ayudar en el control de tratamientos previamente instaurados. (Torrens, 2015)

2.2.3.1 *Parámetros de evaluación de la biometría hemática*

Serie eritroide

La serie roja compone la determinación de los índices eritrocitarios primarios y secundarios:

Índices primarios: Éstos se determinan a partir de una muestra de sangre total e incluyen parámetros como hemoglobina, hematocrito y el conteo total de glóbulos rojos. (Aranda Torrelio, 2011)

Índices secundarios: Dentro de éstos se encuentran el volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM) y la concentración media de hemoglobina corpuscular (CMHC), los mismos que se calculan a partir de los índices primarios. (Aranda Torrelio, 2011)

Serie leucocitaria

Con relación a la serie blanca, se realizan dos determinaciones principales: el conteo total de leucocitos y el conteo diferencial, mismo que es separado en sus cinco grupos principales basófilos, eosinófilos, linfocitos, monocitos y neutrófilos; este conteo diferencial es expresado de forma relativa y absoluta. (Aranda Torrelio, 2011).

Serie plaquetaria

Los parámetros que se analizan con respecto a las plaquetas son el conteo, volumen plaquetario medio (VPM), la amplitud de distribución plaquetaria (PDW) y en algunos casos, el plaquetocrito (PCT); éstos reflejan principalmente la cantidad de plaquetas, su volumen, forma y porcentaje en una pequeña cantidad de sangre total (Salto, Fontana, Marquesoni, y Casale, 2012).

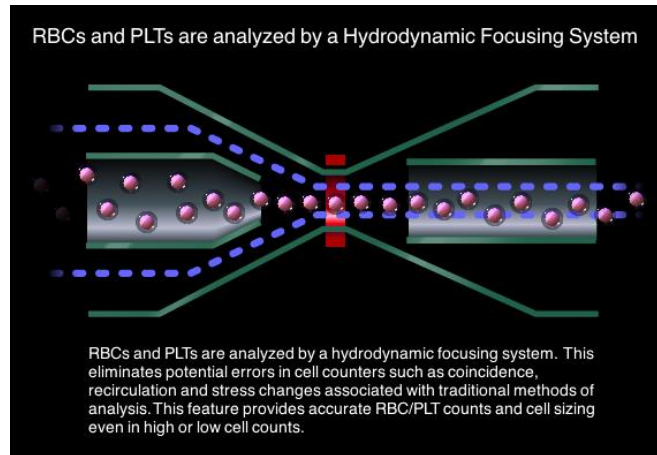
2.2.4 Metodología

2.2.4.1 Principio de medición

Eritrocitos y plaquetas

El método utilizado es el de variación de impedancia combinada con un enfoque hidrodinámico. Como se puede observar en el gráfico 1, en el interior del detector, la boquilla se coloca alineada con el centro de la abertura y las células pasan a través de una microabertura calibrada. La muestra es previamente diluida y se coloca una cantidad en la microabertura, posteriormente la muestra es enviada al tubo de recogida. Con este método se elimina la coincidencia o recirculación de células que son causa de errores potenciales. (Sysmex Corporation, 2005)

Gráfico 1. Principio de medición de eritrocitos y plaquetas



Fuente: (Sysmex Corporation, 2005)

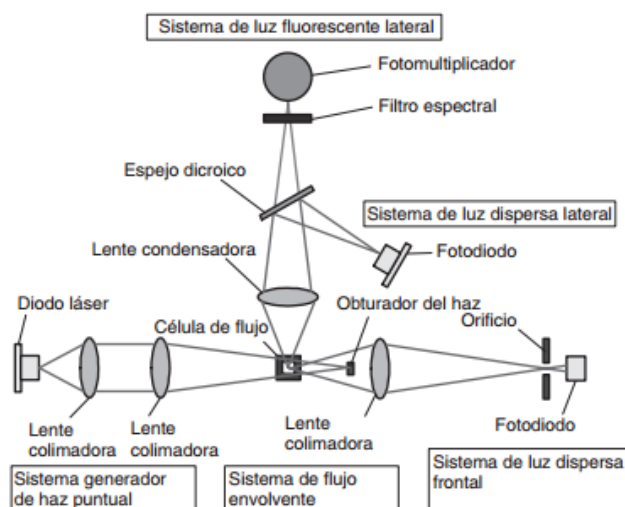
Hemoglobina y hematocrito

La hemoglobina es liberada de los eritrocitos cuando éstos son lisados al combinarse con agentes tensoactivos, se libera la hemoglobina y el grupo globina se combina con SLS (Lauril sulfato de sodio) y forma una molécula de hemicromo SLS-Hb. El hematocrito es determinado mediante la altura del impulso generado por el paso de una célula a través de la microabertura que es directamente proporcional al volumen de eritrocitos analizados. (Sysmex Corporation, 2005)

Diferenciación y conteo de leucocitos

El conteo celular se lleva a cabo a través de citometría de flujo utilizando un láser semiconductor. La muestra de sangre es aspirada por el equipo y después es diluida. Posteriormente el láser semiconductor va enfocando a cada una de las células que pasan a su vez por una celda de flujo, es así que la luz dispersada frontal y lateral (tamaño de células y propiedades) es recibida por los fotodiodos y la luz fluorescente (grado de tinción de la célula sanguínea) es recibida por el fotomultiplicador como se observa en el gráfico 2; esta luz se convierte en estímulos eléctricos y así se obtiene la información de cada una de las células. Se obtiene como resultado la diferenciación de leucocitos expresados en su valor absoluto y porcentual, así como el escatergrama correspondiente. (Sysmex Corporation, 2005)

Gráfico 2. Principio de medición y diferenciación de leucocitos



Fuente: (Sysmex Corporation, 2005)

2.2.5 Variaciones y limitaciones de la biometría hemática

2.2.5.1 Variaciones fisiológicas

Edad

Todos los parámetros evaluados en una biometría sufren cambios considerables según la etapa de vida que esté atravesando el paciente. En los recién nacidos, por ejemplo, los valores de hemoglobina, hematocrito, conteo de eritrocitos, número de leucocitos y de plaquetas están incrementados en diferentes porcentajes. La hemoglobina y el número de eritrocitos incrementan de forma gradual en la niñez hasta alcanzar los valores referenciales de una persona adulta cuando alcanza la pubertad. En una población adulta sana, los valores de hemoglobina, hematocrito, conteo de eritrocitos, así como los índices eritrocitarios permanecen constantes hasta los 60 años de edad. (Bain, Lewis, y Dacie, 2012).

Ejercicio

El rendimiento deportivo adecuado depende de la función óptima de muchos órganos, incluyendo la sangre. Sin embargo, varios parámetros pueden verse afectados por la actividad física, un ejemplo claro de esto es la famosa anemia deportiva, la cual se cree es el resultado de un incremento en el volumen plasmático. (Bain, Lewis, y Dacie, 2012). Por otro lado, los velocistas por realizar una actividad muscular muy intensa, suelen

presentar un aumento transitorio en el número de eritrocitos, hemoglobina, valor de leucocitos y número de plaquetas, esto se debe en gran parte a la reducción en el volumen del plasma. (Bain, Lewis, y Dacie, 2012).

Postura

Existe una pequeña variación en el volumen de plasma, con un incremento en el valor de Hct y Hb cuando el paciente pasa de estar acostado a estar sentado. Mientras que, si el paciente en un inicio estaba realizando algún tipo de actividad y procede a acostarse, se presentará una disminución de entre el 5-10% del valor de hemoglobina y hematocrito. Por lo que, se recomienda que el paciente descanse por un período de entre 5 y 10 minutos antes de la venopunción. (Bain, Lewis, y Dacie, 2012).

Altitud geográfica

El efecto compensatorio ante este factor es la reducción del volumen plasmático con un incremento de hemoglobina, hematocrito y el número de eritrocitos circulantes con un VCM disminuido. El grado de policitemia que se presente dependerá de forma directa del grado de hipoxia que presente la persona. (Bain, Lewis, y Dacie, 2012).

2.2.5.2 Limitaciones metodológicas

Cada equipo presenta limitaciones con respecto a su metodología, lo que hace referencia a la incapacidad de este método para realizar la correcta medición del parámetro. La mayor parte de los analizadores hematológicos presentan limitaciones con respecto al recuento de las células, debido a sustancias que interfieren en la medición de sustancias, lo que conlleva a que se presenten valores falsamente bajos o elevados dependiendo del parámetro. (*Sysmex Corporation, 2005*)

Las limitaciones metodológicas del hematológico Sysmex XT-1800i se describen en la tabla1:

Tabla 1: Limitaciones Metodológicas del equipo Sysmex XT-1800i

PARÁMETRO AFECTADO	CAUSAS
LEUCOCITOS	Leucopenia por agregación leucocitaria Leucocitosis: por agregación plaquetaria, eritrocitos resistentes a lisis, eritroblastos, agregación eritrocitaria por aglutininas frías, crioproteínas, crioglobulinas, fibrina y plaquetas gigantes.
ERITROCITOS	Eritrocitopenia: agregación eritrocitaria por aglutininas frías, microcitosis y eritrocitos fragmentados. Eritrocitosis: por linfocitosis y plaquetas gigantes.
HEMOGLOBINA	Valor falsamente elevado por: linfocitosis, lipemia y proteínas anormales.
HEMATOCRITO	Valor falsamente disminuido por: agregación eritrocitaria por aglutininas frías, microcitosis y eritrocitos fragmentados. Valor falsamente aumentado por: linfocitosis, diabetes severa, uremia y esfeorcitosis.
PLAQUETAS	Trombocitopenia por: agregación plaquetaria, pseudotrombocitopenia y plaquetas gigantes. Trombocitosis por: microcitosis, eritrocitos y leucocitos fragmentados, crioproteínas y crioglobulinas.

*Fuente: Manual del Operador. Equipo Sysmex XT-1800i
Autor: Sysmex Corporation, 2005*

2.2.6 Frotis sanguíneo

El extendido de sangre periférica se destaca por ser una herramienta rápida y de bajo costo que contribuye al diagnóstico de trastornos de la serie roja, como la presencia de fragmentos de células (púrpura trombocitopénica trombótica) o en el caso de la serie blanca, la presencia de blastos circulantes en sangre periférica, entre otras alteraciones. Esto le permite al clínico centrarse en buscar un diagnóstico específico, con lo cual se reduce el tiempo, y se evita realizar otras pruebas complementarias lo que le genera un gasto extra al paciente, se considera factible realizar la evaluación de la morfología de las tres líneas celulares con el fin de confirmar lo reportado previamente por el equipo automatizado. Por lo tanto, un extendido correctamente teñido es de vital importancia para que se realice una correcta interpretación del mismo. (Barth, 2012)

Interpretación

El examen a partir de un frotis sanguíneo bien hecho y teñido, junto con la información del hemograma completo, la capacidad y la habilidad del analista, son una parte esencial del trabajo diagnóstico en el laboratorio. (Palmer et al, 2014).

En un frotis de sangre periférica se evalúan las características morfológicas de las células dependiendo de la línea a la que pertenecen. Para la línea eritroide se evalúa el tamaño, forma, cromía, estadio de diferenciación, existencia de inclusiones y otras alteraciones como agrupaciones celulares, parásitos sanguíneos o bacterias. (Barth, 2012). A las alteraciones del tamaño se las conoce como anisocitosis, las alteraciones de forma se denominan poiquilocitosis, con respecto a la cantidad de hemoglobina o cromía se pueden presentar células con hemoglobina normal (normocromía), disminuida (hipocromía) o aumentada (hipercromía). (Retamales Castelletto, 2015).

Se pueden presentar inclusiones en el eritrocito como restos de hierro, parásitos y hemoglobina precipitada. Tomando en cuenta todos estos parámetros, podemos considerar que un glóbulo rojo normal es aquella célula que presenta un tamaño de entre 7 y 8 μm , con un color rosado y una zona central más pálida; no presenta núcleo ni inclusiones de ningún tipo. (Adewoyin, 2014).

Para poder evaluar la morfología leucocitaria, se debe considerar el tipo de cromatina, tipo y posición del núcleo, tipo de nucleólo, relación núcleo-citoplasma y tipo de citoplasma, como se detalla en la tabla 2. (Barth, 2012). En las alteraciones nucleares se pueden encontrar formas irregulares, en el nucleólo pueden existir alteraciones de tamaño y de visualización, en el citoplasma se pueden encontrar, patológicamente, inclusiones como granulación tóxica, cuerpos de Döhle, gránulos azurófilos, bastones de Auer y vacuolización citoplasmática. (Retamales Castelletto, 2015) (Adewoyin, 2014).

Tabla 2: Características morfológicas de los leucocitos

POLIMORFONUCLEARES				
Célula	Tamaño	Núcleo	Citoplasma	Relación N/C
Neutrófilo	10 - 15 μm	2 - 5 lóbulos basófilos. Cromatina compacta No se observan nucleólos	Azul pálido a rosa Gránulos azurófilos abundantes	Predomina el citoplasma
Eosinófilo	12 - 17 μm	2 - 3 lóbulos basófilos. Cromatina compacta No se observan nucleólos	Color acidófilo Puede tener bordes irregulares Abundantes gránulos acidófilos	Predomina el citoplasma
Basófilo	10 - 14 μm	2 lóbulos basófilos. Cromatina compacta No se observan nucleólos	Color lavanda a incoloro Gránulos basófilos gruesos que pueden ocultar el núcleo	Predomina el citoplasma
MONONUCLEARES				
Linfocito	7 - 18 μm	Un solo núcleo basófilo redondo u ovalado con cromatina condensada	Escaso o moderado de color celeste que puede presentar vacuolas. Tiene escasos gránulos azurófilos	3 - 5: 1
Monocito	12 - 20 μm	Basófilo con forma variable: cerebriforme, hendido o arriñonado. Cromatina compacta que no deja ver nucleólos	Azul grisáceo con gránulos finos, puede presentar pseudópodos y vacuolas	Variable

Fuente: *Blood Cells: A practical Guide Fifth Edition*
Autor: (Bain, 2014)

Para evaluar la morfología de las plaquetas se debe observar su tamaño (normal, micro o macroplaquetas), la cantidad (aumentadas o disminuidas), cromía (plaquetas grises por hipogranularidad) y su distribución en el frotis que puede ser regular, formando agregados o rosetas. (Barth, 2012). Normalmente, las plaquetas tienen un tamaño de 2 - 5µm, presentan un color ligeramente basófilo (violeta), su número por campo en 100x puede variar entre 7 y 20 plaquetas, y éstas deben estar regularmente distribuidas. (Retamales Castelletto, 2015) (Adewoyin, 2014)

Por todo lo antes mencionado, el ICSH se planteó como objetivo proporcionar una guía para la nomenclatura y clasificación para las anomalías de los glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas. Es así que, en el 2015, el Ministerio de Salud Pública de Chile presentó una serie de recomendaciones para realizar una correcta, objetiva y estandarizada valoración de las líneas celulares por medio del frotis sanguíneo. (Palmer, y otros, 2014) (Retamales Castelletto, 2015). La recomendación es en base a la equivalencia entre la simbología de cruces y adverbios de cantidad, como se muestra en la tabla 3.

Tabla 3: Relación de la interpretación cualitativa y cuantitativa

INFORME A	INFORME B	INTERPRETACIÓN
+	0-5 x campo	Escaso, leve, discreto, presente, algunos, uno que otro
++	6-10 x campo	regular cantidad, moderada, frecuente
+++	11 y + x campo	abundante , relevante, muy abundante, mayoría

Fuente: Recomendaciones para la interpretación del hemograma: serie roja, blanca y plaquetaria
Autor: (Retamales Eduardo, 2015)

2.3 Marco Conceptual

Anticoagulante: Sustancia con capacidad de prevenir la coagulación sanguínea ya sea *in vivo* o *in vitro*. (Ughachukwu, Ezenyeaku, Ogamba et al, 2012)

Agente Quelante: Es una molécula capaz de asociarse a un ion y permitir que éste permanezca estable, evitando las posibles reacciones del mismo con otros elementos del medio en el que se encuentre. (Baeza, 2010).

Alcalino: Sustancia con la capacidad de segregar iones hidroxilos (OH-) cuando se encuentra disuelta en agua, otorgando un pH mayor a 7. (Gallego, Garcinuño, Morcillo, & Vásquez, 2013)

Anemia: Trastorno que se caracteriza por un número insuficiente de eritrocitos necesarios para satisfacer las necesidades del organismo. Es causada principalmente por carencias nutricionales como folato, vitamina B12, hierro y vitamina A. (Organización Mundial de la Salud, 2011)

Anticuerpos: Son moléculas de naturaleza glucoproteica especializadas. Forman parte de la respuesta humoral del organismo. Tienen la capacidad de combinarse específicamente con antígenos o inmunógenos. (Saldaña, 2013)

Antígeno: Toda sustancia sea propia o extraña para el organismo que tiene la capacidad de generar una respuesta inmunitaria en un individuo, estimulando la producción de anticuerpos. (Saldaña, 2013)

Biometría hemática: Proviene de las palabras griegas *bitos* = *célula*; *metros* = *medida*; *haema* = *sangre*, por lo tanto, es el estudio cualitativo (tamaño, forma y volumen celular) y cuantitativo de las células que constituyen la sangre. (Campuzano-Maya, 2013).

Bilirrubina: Principal pigmento biliar, se forma a partir de la hemoglobina (producto de degradación). (López, 2012)

Biopsia: Constituye la extracción de un fragmento de tejido o tumor de una parte del cuerpo humano, lo que permite examinarlo al microscopio. (Saldaña, 2013)

Corticoesteroides: Son medicamentos de naturaleza esteroide, empleados para reducir la inflamación en una gran variedad de trastornos. (Wiley, 2015).

Dacriocitos: Eritrocito con forma de lágrima o de pera, pueden presentar una proyección contundente. (Rodak y Carr, 2017)

Dianocitos - Codocitos: Eritrocitos delgados con un área superficial aumentada que tienen un área de tinción aumentada que aparece en el centro del área, es decir existe una concentración central de hemoglobina rodeada por área incolora, formando un anillo periférico de hemoglobina. (Palmer, y otros, 2014) (Rodak y Carr, 2017)

Eliptocitos: Los eliptocitos son células con una forma elíptica (el eje largo es más del doble del eje corto), también denominadas como células en forma de cigarro. (Palmer, y otros, 2014) (Rodak y Carr, 2017)

Epítope: Sitio o porción inmunodominante de un antígeno, mediante el cual se une ya sea con un anticuerpo o con un receptor del linfocito T. Se le suele denominar también determinante antigénico. (Vega Robledo, 2009).

Equinocitos o células crenadas: Glóbulos rojos que han perdido su forma discoidal y están cubiertos por proyecciones romas cortos o espículas de forma bastante regular. (Palmer, y otros, 2014).

Eritrocito: Célula sanguínea con forma de disco bicóncavo que mide aproximadamente 7 μm de diámetro. Su principal función es aportar oxígeno a todo el organismo. (Rodak, 2010).

Esferocitos: Eritrocitos de diámetro pequeño (<6,5 μm), con MCV normal o disminuido y sin palidez central. (Palmer, y otros, 2014).

Esplenectomía: Extirpación total del bazo. (Correa, Morales y Sanabria, 2016).

Estomatocito: Eritrocitos con área de palidez central similar a una boca o estoma. (Rodak y Carr, 2017)

Hemograma: Esta palabra está formada por raíces griegas *hema* (sangre) y *grama* (grabado, escrito); por lo tanto, significa la descripción del número, proporciones y características morfológicas de los elementos celulares de la sangre. (Saldaña, 2013).

Hemostasia: Constituye un proceso vital que ocurre de forma continua en el organismo que tiene como finalidad mantener la integridad del sistema circulatorio, evitando así las hemorragias o pérdidas de sangre. (Gómez Baute, Guerra Alfonso, Dita Salabert et al, 2011)

Hipoxia: Disminución de la presión de oxígeno en los capilares sanguíneos, lo que conlleva a una disminución en el aporte de oxígeno hacia los tejidos. (Saldaña, 2013).

Leucemia: Significa sangre blanca. Se le denomina cáncer de los glóbulos blancos, debido al aumento incontrolable en el número de leucocitos, impidiendo que se produzcan glóbulos rojos, plaquetas y otros de leucocitos saludables. (American Cancer Society, 2015)

Leucocitos: Células sanguíneas que constituyen el principal mecanismo de defensa del organismo contra agentes extraños. (Rodak, 2010)

Macrocito: Eritrocitos que presentan un diámetro mayor a 9 μm . (Rodak y Carr, 2017)

Mononucleares: Leucocitos que poseen un único núcleo redondo, como los linfocitos y los monocitos. (Rodak, 2010)

Neoplasia: Es una masa anormal de tejido cuyo crecimiento excede y no está coordinado con el de los tejidos normales, y persiste al cesar el estímulo que desencadenó el cambio. (Zicre, 2012)

Plaquetas: Fragmentos citoplasmáticos provenientes de una célula conocida como megacariocito y su principal función está relacionada con la coagulación sanguínea. (Rodak, 2010).

Policitemia: Patología donde se presenta un aumento en el número de hematíes en sangre. La policitemia primaria se debe a una hiperproducción de la médula ósea, y la secundaria se genera como resultado de la disminución del oxígeno en la sangre. (Verstovsek, 2012)

Polimorfonucleares: Leucocitos que presentan un núcleo multilobulado. Dentro de esta categoría se encuentran los neutrófilos, eosinófilos y basófilos. (Rodak, 2010).

Pseudoleucocitosis: Falso aumento del recuento de leucocitos. (Campuzano-Maya, 2013).

Pseudoleucopenia: Constituye una falsa disminución del contaje total de leucocitos o glóbulos blancos. (Campuzano-Maya, 2013).

Pseudomacrocitosis: Es una falsa elevación del volumen corpuscular medio (VCM). (Campuzano-Maya, 2013).

Pseudotrombocitopenia: Fenómeno en el que el recuento de plaquetas es falsamente disminuido. (Xiao, Yu, y Xu, 2015) (Marco-Schulkea, y otros, 2012)

Tromboembolismo: Es una entidad clínico-patológica que se desencadena como consecuencia de la obstrucción arterial pulmonar por causa de un trombo desarrollado in situ. (Juretschke y Barbosa, 2013)

Trombopoyetina: Es una proteína de fase aguda que estimula la producción de plaquetas. (Contreras, 2013)

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1 Diseño del estudio

El presente trabajo es un estudio exploratorio y descriptivo de corte longitudinal, en el cual se realizó un estudio inicial de los parámetros hematológicos y de morfología celular, con una evaluación adicional 4 horas posteriores a la recolección de la muestra, con la finalidad de determinar si existen o no alteraciones cualitativas y/o cuantitativas.

3.2 Población

Nuestra población se enfoca en las personas que acuden al banco de sangre del HCAM y son aceptados como donantes de sangre, así como aquellas personas que acuden, por consulta externa, a realizarse exámenes del laboratorio en la misma institución.

3.3 Muestra, tamaño muestral y selección

3.3.1 Muestra

Se conoce que para el grupo control que son personas sanas, el HCAM recibe 12000 donaciones anuales (Mosquera y Rivera, 2016) y que atendió en el 2015 a 555888 pacientes por consulta externa, presentando una prevalencia del 4.1% de pacientes diabéticos y del 6.6% para pacientes hematológicos. Con estos antecedentes, se determinó una muestra de 272 pacientes divididos en 3 estratos: 193 personas sanas, 31 pacientes diabéticos y 48 pacientes hematológicos.

3.3.2 Tamaño muestral

En base a los datos mencionados previamente y tomando en cuenta un nivel de confianza del 95% y un error de muestreo del 7%, se utilizó la siguiente fórmula de población finita por cada estrato a estudiar.

- Estrato 1: Pacientes sanos

$$n = \frac{N \times z^2 \times p \times q}{d^2 \times (N - 1) + z^2 \times p \times q}$$

$$n = \frac{12000 \times 1.96^2 \times 0.5 \times 0.5}{0.07^2 \times (12000 - 1) + 1.96^2 \times 0.5 \times 0.5}$$

$$n = \frac{12000 \times 3.84 \times 0.25}{0.0049 \times 11999 + 3.84 \times 0.25}$$

$$n = \mathbf{193 \text{ personas sanas}}$$

Dónde:

n= Tamaño de la población

N= Población conocida

p= Porción esperada

q= 1-p

d= Precisión del estudio

- Estrato 2: Pacientes diabéticos

$$n = \frac{N \times z^2 \times p \times q}{d^2 \times (N - 1) + z^2 \times p \times q}$$

$$n = \frac{555888 \times 1.96^2 \times 0.041 \times 0.959}{0.07^2 \times (555888 - 1) + 1.96^2 \times 0.041 \times 0.959}$$

$$n = \frac{555888 \times 3.84 \times 0.039}{0.0049 \times 555887 + 3.84 \times 0.039}$$

$$n = \mathbf{31 \text{ pacientes diabéticos}}$$

- Estrato 3: Pacientes hematológicos

$$n = \frac{N \times z^2 \times p \times q}{d^2 \times (N - 1) + z^2 \times p \times q}$$

$$n = \frac{555888 \times 1.96^2 \times 0.066 \times 0.934}{0.07^2 \times (555888 - 1) + 1.96^2 \times 0.066 \times 0.934}$$

$$n = \frac{555888 \times 3.84 \times 0.061}{0.0049 \times 555887 + 3.84 \times 0.061}$$

$$n = \mathbf{48 \text{ pacientes hematológicos}}$$

Tamaño muestra total: 272 pacientes

3.3.3 Selección de muestra

3.3.3.1 Criterios de Inclusión

- Pacientes y personas sanas en edades comprendidas entre 18 y 65 años
- Personas consideradas sanas, aceptadas para donar sangre
- Pacientes diabéticos controlados que no presenten patologías subyacentes como insuficiencia renal, pie diabético y/o problemas oculares
- Pacientes diagnosticados con cualquier trastorno hematológico con aumento o disminución de la serie roja, serie blanca y/o plaquetas.
- Pacientes y personas sana que hayan firmado el consentimiento informado. Anexo 1

3.3.3.2 Criterios de Exclusión

- Pacientes y personas sanas menores de 18 años
- Pacientes y personas sanas mayores de 65 años
- Pacientes y personas sanas que no hayan sido aceptados como donantes de sangre
- Pacientes que presenten patologías diferentes a las requeridas
- Datos incompletos en la historia clínica del paciente
- Pacientes que no hayan firmado el consentimiento informado
- Pacientes diabéticos no controlados o que presenten patologías subyacentes como insuficiencia renal, pie diabético y/o problemas oculares

3.4 Operacionalización de variables

3.4.1 Variables dependientes

Valores de eritrocitos, leucocitos, plaquetas, hemoglobina, hematocrito.

3.4.2 Variables independientes

Anticoagulante empleado y tiempo de procesamiento

Operacionalización de variables

VARIABLES DEPENDIENTES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIÓN	INDICADOR	ESCALA	INSTRUMENTO DE MEDIDA
Valor de eritrocitos	Número de glóbulos rojos por uL de sangre	Cuantitativa	Media del valor de eritrocitos Media del valor de leucocitos Media del valor de plaquetas Media del valor de hemoglobina Media del valor de hematocrito	Ordinal	Equipo hematológico
Valor de leucocitos	Número de glóbulos blancos por uL de sangre				
Valor de plaquetas	Número de plaquetas por uL de sangre				
Hemoglobina	Proteína que transporta oxígeno y da el color rojo a la sangre. (Carr y Rodak, 2010)				
Hematocrito	Volumen de glóbulos rojos con respecto al volumen de sangre total. (Carr y Rodak, 2010)				
VARIABLES INDEPENDIENTES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIÓN	INDICADOR	ESCALA	INSTRUMENTO DE MEDIDA
Anticoagulante	Sustancia que evita la coagulación sanguínea	Cualitativa	% de alteraciones encontradas con un anticoagulante/total de alteraciones encontradas	Nominal	Hoja de registro
Tiempo	Duración de las cosas sujetas a cambio	Cuantitativa Cualitativa	% de alteraciones encontradas con respecto al tiempo/total de alteraciones encontradas	Ordinal	Hoja de registro

3.5 Obtención de información y toma de muestra biológica

3.5.1 Recolección de muestras sanguíneas

A cada participante se le preguntó su nombre completo, edad, número de cédula y correo electrónico para elaborar una base de datos. Posteriormente, se extrajo un total de 11.5 mL de sangre en tubos plásticos VACUETTE: 3.5 mL en un tubo con citrato de sodio al 3.2%, 4 mL en un tubo con EDTA K₃ y 3.5 mL en un tubo con TPF al 5% p/v.

La muestra sanguínea fue extraída según el manual brasileño de toma de muestras de la Sociedad Brasileña de Patología.

El procedimiento que se siguió para la extracción de muestras en donantes de sangre fue el siguiente:

- Comprobar los datos del paciente participante
- Revisar los dos brazos y elegir la zona de punción
- Colocar el torniquete, 10 cm por encima del lugar a puncionar
- Higienizar la zona de punción y esperar un correcto secado
- Una vez realizada la asepsia, se realiza la punción en una vena de buen calibre siguiendo los lineamientos para donación de sangre establecidos por el banco de sangre del hospital
- Al finalizar la donación y posterior al llenado de tubos requeridos por el banco de sangre, se llenan los tubos para el estudio en el siguiente orden: citrato, EDTA y TPF.
- Los tubos con citrato y TPF se homogenizan por inversión suave 5 veces y los tubos con EDTA se invierten en 8 ocasiones.
- Previo al llenado del siguiente tubo, se corta una pequeña porción de la manguera para evitar posible contaminación con otros aditivos.
- Extraer la aguja y descartar el material en el lugar respectivo.
- Finalmente, los tubos se rotulan según el código establecido para cada paciente

El procedimiento a seguir para la extracción de muestras en pacientes de consulta externa fue el siguiente:

1. Comprobar los datos del paciente participante

2. Revisar los dos brazos y elegir la zona de punción
3. Colocar el torniquete por no más de 1 minutos, 10 cm por encima del lugar a puncionar
4. Higienizar la zona de punción y esperar un correcto secado
5. Puncionar el área y extraer 3 muestras en tubos con citrato de sodio al 3.2%, EDTA K3 y TPF al 5% p/v.
6. Homogeneizar los tubos mediante inversión delicada
7. Retirar el torniquete
8. Retirar la aguja y cubrir el área con un algodón. (Sociedad Brasileña de Patología Clínica Medicina Laboratorial, 2010).

3.5.2 Conservación de las muestras

Las muestras fueron almacenadas a temperatura ambiente (22-24°C) por un lapso de entre 4 y 5 horas para un segundo y último procesamiento y además preparar el segundo frotis sanguíneo.

3.6 Procedimiento de laboratorio

Las muestras fueron procesadas en el área de hematología del laboratorio central del HCAM.

3.6.1 Análisis de muestras de sangre total

3.6.1.1 Materiales, reactivos y equipos utilizados

Equipos

- Equipo hematológico Sysmex XT 1800i

Insumos

- Puntas plásticas de pipeta estériles de 5 – 100 UI

Reactivos

- Cell pack (EPK)

Lote P6022 con fecha de caducidad 27/07/2017

Lote P6063 con fecha de caducidad 08/09/2017

Lote P6090 con fecha de caducidad 01/12/2017

Lote P6002 con fecha de caducidad 11/03/2017

➤ Sulfolyser (SLS)

Lote P5009 con fecha de caducidad 28/10/2016

Lote P6002 con fecha de caducidad 11/03/2017

➤ Stromatolyser-FB (FBA)

Lote P5010 con fecha de caducidad 18/11/2016

Lote P6002 con fecha de caducidad 28/01/2017

➤ Stromatolyser-4DL (FFD)

Lote P6004 con fecha de caducidad 16/02/2017

Lote P6003 con fecha de caducidad 12/02/2017

Lote P6005 con fecha de caducidad 22/03/2017

Lote P6002 con fecha de caducidad 22/01/2017

➤ Stromatolyzer- 4DS (FFS)

Lote P6004 con fecha de caducidad 24/02/2017

Lote P6002 con fecha de caducidad 18/01/2017

3.6.1.2 Procedimiento para el examen automatizado

- a) Preparar el equipo hematológico: limpieza y mantenimiento diario, correr controles normal, alto y bajo.
- b) Colocar las muestras extraídas en los racks e inicializar el equipo
- c) Realizar el examen de cada tubo por triplicado
- d) Realizar nueva lectura por triplicado después de 4 horas, previa homogeneización de las muestras por 2 minutos.

3.6.1.3 Resultados, interpretación y reporte

Los resultados obtenidos fueron almacenados en una base de datos para su análisis e interpretación posterior. Se elaboró un reporte de resultados que fue enviado a cada paciente con los resultados obtenidos.

3.6.2 Análisis morfológico de los frotis sanguíneos

3.6.2.1 Materiales, reactivos y equipos utilizados

Instrumentos

- Pipeta automática de volumen fijo de 5 μ L
- Microscopio óptico Olympus y Leica

Insumos

- Puntas plásticas de pipeta estériles de 5 – 100 μ L
- Placas portaobjetos desengrasadas
- Rejilla y soporte para tinción
- Aceite de inmersión
Lote ACEINMJUN17/16 con fecha de caducidad 06/2018
- Frasco ámbar de vidrio de 500 mL
- Papel filtro
- Embudo de vidrio

Reactivos

- Colorante Wright
Lote WRIJUN21/16 con fecha de caducidad 06/2018
- Solución tamponada pH 7,2
Lote 16228301 con fecha de caducidad 03/2018

3.6.2.2 Procedimiento para la preparación, tinción y valoración del frotis sanguíneo

Los frotis de sangre periférica se realizaron con las muestras tratadas con EDTA K₃ y TPF al 5% p/v en 2 diferentes tiempos; inmediatamente después de la recolección y 4 horas después.

Sobre un portaobjetos perfectamente limpio, se colocó en un extremo una gota pequeña de sangre (5 µL) y por medio de otro portaobjetos de borde pulido y al cual se le ha quitado los ángulos (extensor), se realizó la extensión de la gota de sangre conservando un ángulo menor a 45° respecto al portaobjetos horizontal, el extensor se apoya delante de la gota de sangre y retrocediendo hasta tocarla, una vez que la misma se extiende a lo largo del borde de contacto por capilaridad, se avanza con firmeza y no muy rápidamente. Los frotis sanguíneos se dejaron secar a temperatura ambiente. (Duarte Romero, 2013).

Para la tinción se empleó colorante Wright y solución tamponada con un pH de 7.2, se colocaron los frotis secos en una rejilla de tinción y se cubrieron completamente con Wright por 3 minutos; posteriormente se colocó igual cantidad de solución tamponada hasta formar una capa verde metálico. Finalmente, se quitó el exceso de colorante con agua corriente, se limpió la parte posterior de cada placa y se dejó secar al ambiente.

La valoración morfológica fue realizada por un médico hematólogo y las 2 estudiantes que realizaron el estudio. Para esta etapa se utilizaron microscopios ópticos y la observación se realizó en lente de 100x con aceite de inmersión, el reporte fue realizado considerando los criterios descritos en el Anexo 15.

3.6.2.3 Resultados, interpretación y reporte

Cada uno de los observadores registró, en un formato establecido, las características de las células y anormalidades observadas en cada placa. (Anexo 15)

Al finalizar la observación, se realizó una base de datos para su análisis e interpretación posterior. También se tomaron fotografías de lo más relevante de cada placa para añadirla en el informe que se envió a cada participante.

3.7 Control de calidad

Para garantizar la confiabilidad de las mediciones, se llevó a cabo el control de los instrumentos a emplear desde la reconstitución del anticoagulante, los tubos para la

recolección de muestras y finalmente, el equipo hematológico en el cual se procesaron cada una de las muestras recolectadas.

3.7.1 Control de calidad de balanza

Se utilizó una balanza electrónica analítica BOECO BAS 31 PLUS en el proceso de preparación del anticoagulante TPF y en la verificación de las pipetas a utilizarse en el estudio. Esta balanza fue calibrada por una institución acreditada por el Servicio de Acreditación Ecuatoriano (SAE). (Anexo 4).

3.7.2 Control de calidad de pipetas

Se trabajó con pipetas de pistón por desplazamiento de aire y de volumen fijo de 5 y 100 μL , ésta última fue calibrada, (Anexo 5), y después se realizó la respectiva verificación, (Anexo 6), se trabajó con un error máximo permitido (EMP) $\pm 0,8\%$ que es el valor establecido por la norma NTE INEN – ISO 8655 – 2 (International Organization for Standardization, 2002). La pipeta de 5 μL no fue calibrada debido a que no existe en el país un laboratorio acreditado por el SAE para realizar dicho procedimiento en pipetas con volúmenes inferiores a 10 μL . Sin embargo, se realizó la verificación respectiva manejando un EMP de $\pm 2.5\%$. (Anexo 7)

3.7.3 Control de calidad del equipo hematológico Sysmex XT 1800i

En la etapa inicial, se realizó una calificación del equipo hematológico que fue empleado en el estudio. (Anexo 8). Las etapas de calificación valoradas se basaron en la instalación, operación y desempeño del equipo empleado. (Aguay, 2013).

El equipo fue previamente calibrado por la casa comercial como parte del mantenimiento preventivo programado. Adicionalmente, previo al inicio del procesamiento de las muestras se corrieron controles normales, patológico bajo y patológico alto. Se emplearon los criterios proporcionados por el fabricante para la definición de los límites de control e incluir los valores de los controles. (Anexos 9 y 10)

3.7.4 Control de Temperatura

La temperatura fue medida con un termómetro calibrado previamente y que fue facilitado por el laboratorio donde se llevó a cabo el estudio. Se realizaron controles de la temperatura ambiente, la misma que en el período de realización del estudio se mantuvo en un rango entre 20 y 25°C; se controló la temperatura de la refrigeradora donde se almacenan los controles y calibradores del equipo, la temperatura promedio

registrada fue de 4.5°C que se considera dentro del rango óptimo para la conservación adecuada de los insumos. (Anexos 11 y 12).

3.7.5 Control de calidad del anticoagulante preparado

3.7.5.1 Preparación del Anticoagulante TPF.

Se preparó TPF al 5%, pesando 5 gramos, en la balanza calibrada, y se disolvió en agua destilada tipo III, de acuerdo con la norma ISO 3696 (Water for analytical laboratory use) y se aforó en un balón de 100 mL. (International Organization for Standardization, 2004).

El anticoagulante una vez preparado, fue almacenado a temperatura ambiente en un frasco estéril hasta el momento de su dispensación. Estas condiciones de preparación y almacenamiento fueron descritas por Rangel en el 2009.

Después de transcurrido un mes desde la preparación del anticoagulante, se realizó el mismo procedimiento para evitar que el TPF pierda actividad o se contamine.

3.7.5.2 Dispensación del Anticoagulante TPF.

La dispensación del anticoagulante en los tubos fue realizada por las 2 estudiantes, ya que, en la verificación de la calibración de la pipeta de 100 mL, ninguna tuvo un error de pipeteo superior al límite establecido. (Anexo 6)

3.7.5.3 Control de Esterilidad del Anticoagulante TPF.

Tomando en cuenta la manipulación que se realizó desde el pesaje hasta la dispensación del anticoagulante en los tubos, se realizó un control de esterilidad tomando pequeñas alícuotas del anticoagulante preparado y sembrando en agar sangre por 24 horas a 37°C.

Este procedimiento fue realizado en 3 ocasiones, al momento en que se preparó el anticoagulante y cada 15 días a lo largo de un mes.

3.7.5.4 Determinación relación Sangre: Anticoagulante

De acuerdo con lo establecido en los protocolos de validación de métodos, se seleccionó a 20 pacientes aparentemente sanos (muestra mínima), a los cuales se les tomó muestras de sangre con TPF, 3 tubos en volúmenes de 3, 4 y 5 mL, (Westgard, 2015) (Naidis y Turpeinen, 2010)

Las muestras fueron procesadas por triplicado en el equipo escogido y se determinó que la mejor relación sangre: anticoagulante para realizar el estudio fue de 4 mL de sangre con 100 uL de anticoagulante al 5% p/v. Esta relación se estableció después de realizar una comparación de los resultados obtenidos con TPF y EDTA, ya que al usar un volumen de 3 mL el equipo arrojó alarmas de agregados plaquetarios mientras que, al usar un volumen de 5 mL había un efecto de dilución notable en la muestra.

3.7.5.5 Control de calidad de los tubos para recolección de muestras

Para la realización de este estudio, se utilizaron tubos Vacuette® con EDTA K₃ de 4 mL y citrato de sodio al 3,2% de 3,5 mL. Para el anticoagulante a probar en el estudio, éste fue dispensado en tubos sin anticoagulante de 6 mL con jeringas estériles de 1mL.

Para realizar un control se procedió a tomar de cada lote de 100 tubos 20, para así cumplir con la muestra mínima para realizar la validación de los tubos, con la finalidad de asegurar que todos los tubos tuvieran el mismo vacío y por ende recolecten el mismo volumen de sangre. (Naidis y Turpeinen, 2010) Cada tubo fue analizado por triplicado en el equipo hematológico y con los valores obtenidos se calculó medidas de estadística descriptiva como media, varianza, desviación estándar y coeficiente de variación por cada parámetro a estudiar, usando como criterio de aceptación lo expresado por el fabricante según el Anexo 14.

3.7.5.6 Control de calidad de la preparación y tinción del frotis de sangre periférica

Preparación del Frotis Sanguíneo.

Los frotis se realizaron en placas nuevas, previamente desengrasadas con alcohol al 70% y secadas al ambiente.

Se determinó que la cantidad de sangre a emplearse para realizar el frotis de sangre periférica, fue de 5 uL; en base a ensayos de prueba y error realizados previamente. Con respecto al ángulo y la fuerza empleados, aunque hay parámetros establecidos, no se puede garantizar que se hayan cumplido al 100% ya que los frotis fueron realizados manualmente. Sin embargo, se trató de mantener un ángulo de 45° y la misma fuerza para todas las preparaciones. (Duarte Romero, 2013).

Coloración del Frotis Sanguíneo.

El colorante Wright para la tinción fue filtrado previo a su uso y colocado en un frasco de vidrio color ámbar, para almacenarlo a temperatura ambiente en un lugar protegido de la luz. Los tiempos de tinción fueron establecidos mediante ensayo y error, en base al tipo de colorante arrojando tinciones óptimas al colocar el colorante Wright por 3 minutos y la solución tamponada por 5 minutos.

Control de la Variabilidad Interobservador e Intraobservador.

Se realizó un control de variabilidad inter e Intraobservador a través de la determinación del índice de kappa de Cohen o de concordancia. Cada uno de los 3 observadores analizó un total de 20 placas (frotis sanguíneos), se realizó la matriz respectiva y se calculó el índice de concordancia Interobservador. Posteriormente, un set de 20 frotis sanguíneos fue entregado a cada observador, quienes hicieron la valoración de estas placas en dos diferentes tiempos y así se obtuvo el índice de concordancia Intraobservador, de cada uno de ellos. (Anexo 16).

3.8 Manejo de la información y análisis de datos

Se creó una base de datos en una hoja electrónica Excel versión 2010 para los datos cualitativos y cuantitativos recolectados en el estudio, donde consta la siguiente información: Código, hora de toma de muestra, hora de análisis, edad, sexo, patología, resultados hematológicos cualitativos y cuantitativos; codificado para el análisis estadístico posterior.

Para el cálculo del índice de concordancia se empleó el programa estadístico IBM SPSS Statistics versión 23.

Se realizó un análisis estadístico de los datos cuantitativos recolectados con el uso del programa R para análisis descriptivos, se compararon las medias de cada parámetro estudiado mediante la prueba estadística *t-student* pareada, para determinar si hay o no diferencias significativas.

Para el manejo de los datos cualitativos se elaboró una tabla resumida en Excel versión 2010 con los cambios encontrados en función del tiempo y del anticoagulante empleado.

Finalmente, se procedieron a realizar tablas y gráficos, para la posterior exposición de los datos obtenidos.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

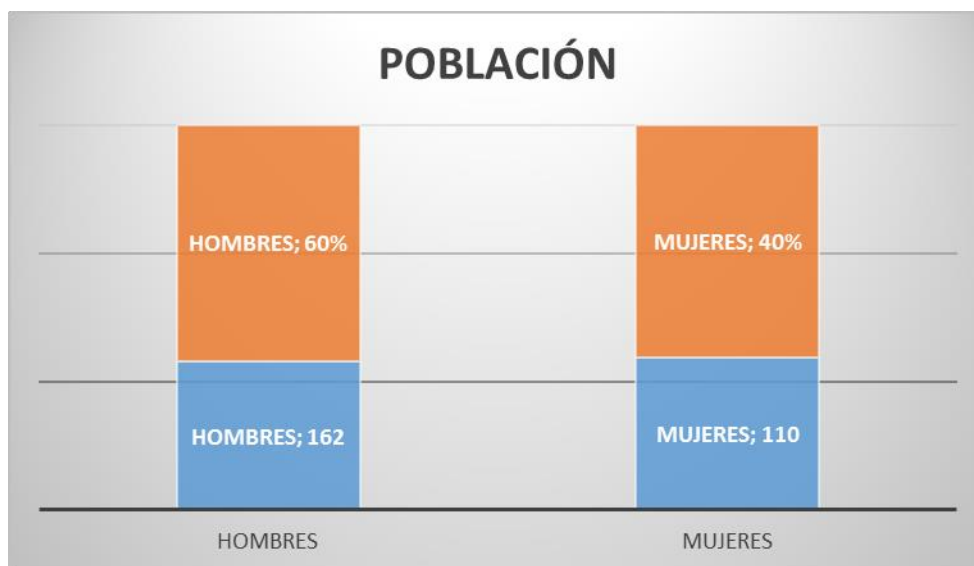
4.1 Descripción de la muestra

En el presente estudio se analizaron un total de 816 muestras correspondientes a 272 personas, 193 individuos que acudieron a donar sangre al banco de sangre del HCAM y 79 pacientes que utilizaron el servicio de laboratorio clínico por consulta externa. Para este fin, se tomaron en cuenta tres variables: el tipo de anticoagulante empleado, el tiempo de procesamiento de las muestras y tipo de patología que presentaba cada paciente.

4.1.1 Distribución de la muestra por género, edad y patología

Nuestra población estuvo conformada por 272 participantes, y como se observa en el gráfico 3, hay un aumento ligero de participantes masculinos; esta diferencia proviene del grupo de donantes de sangre, que fueron en su mayoría, donantes masculinos.

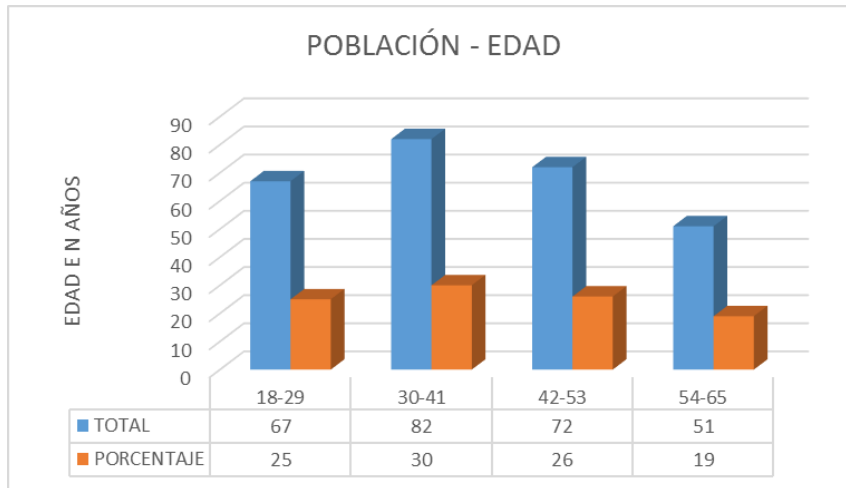
Gráfico 3. Total de individuos que acudieron al banco de sangre y al laboratorio clínico del HCAM según el género.



Con respecto a la edad de los participantes, en el gráfico 4 se puede evidenciar que existe una distribución bastante homogénea entre los participantes cuya edad está comprendida entre los 18 y 53 años, que representan el 81% de nuestra población, mientras que, apenas el 19% de los participantes tenían entre 54 y 65 años de edad.

Esto es atribuible a que los donantes de sangre, que constituyen nuestro grupo control, en su mayoría, no sobrepasaban los 50 años de edad.

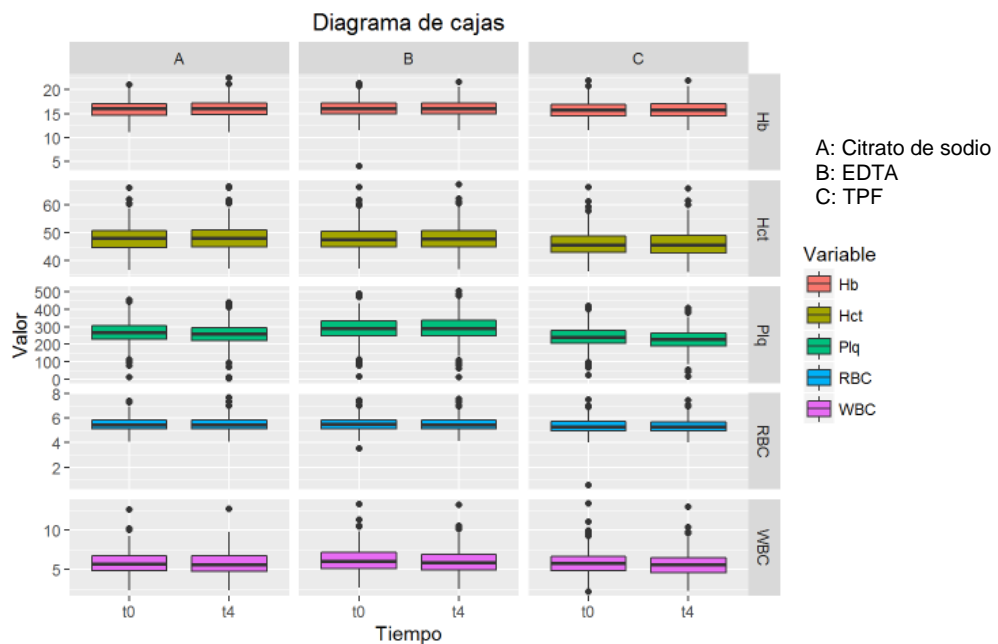
Gráfico 4. Total de participantes que acudieron al banco de sangre y al laboratorio clínico del HCAM según la edad.



4.2 Correlación de los parámetros estudiados con el tipo de anticoagulante y el tiempo

En el gráfico 5, mediante diagrama de cajas, se muestra la distribución de las medias de cada parámetro estudiado en función del anticoagulante, en 2 tiempos diferentes de procesamiento t0 y t4.

Gráfico 5. Medias de cada parámetro en función del tiempo y anticoagulante.



A priori podemos decir que para cada variable no existe una diferencia estadísticamente significativa entre los tiempos t0 y t4 en ningún tipo de anticoagulante estudiado.

Para corroborar esto realizamos la prueba *t-student pareada* para cada variable y para cada tipo de anticoagulante empleado.

En la tabla 4 se encuentran las medias obtenidas de cada parámetro con cada anticoagulante en el primer procesamiento o t0. Se encontraron diferencias significativas en el valor de plaquetas, el resto de parámetros mostraron medias similares.

Se puede evidenciar que los resultados obtenidos con el TPF, anticoagulante en estudio, son iguales a los resultados arrojados por el EDTA en 4 de los 5 parámetros estudiados. Sin embargo, se obtuvieron diferencias significativas en el resultado de plaquetas al comparar el citrato de sodio, EDTA y TPF, siendo este último el que arroja la media más baja.

Adicionalmente, se encontraron 4 pacientes que presentaron trombocitopenia y fueron los únicos casos en los que las muestras con TPF dieron valores más altos, comparables con los valores obtenidos en las muestras anticoaguladas con citrato de sodio.

Tabla 4. Prueba *t-student* pareada comparando el valor de los parámetros estudiados contra los anticoagulantes empleados en el primer procesamiento

Parámetro	Unidades	Tipo de anticoagulante			P
		EDTA K3	TPF	CITRATO*	
Hematíes	10 ⁶ /mm ³	5,53	5,5	NA	0,412
Leucocitos	10 ³ /mm ³	6,19	6,18	NA	0,134
Hemoglobina	g/ dL	16,09	15,98	NA	0,21
Hematocrito	%	47,8	47,65	NA	0,065
Plaquetas	10 ⁹ /mm ³	266	NA	290	0,031
Plaquetas	10 ⁹ /mm ³	NA	243	290	0,028
Plaquetas	10 ⁹ /mm ³	266	243	NA	0,018

*El Citrato fue empleado únicamente para evaluar la cuantificación de plaquetas

En la tabla 5 se encuentran las medias obtenidas de cada parámetro con cada anticoagulante en el segundo procesamiento o t4. Se encontraron diferencias significativas en todos los parámetros estudiados, siendo las muestras con TPF las que presentan las medias más bajas.

Tabla 5. Prueba *t-student* pareada comparando el valor de los parámetros estudiados contra los anticoagulantes empleados en el segundo procesamiento.

<i>Parámetro</i>	<i>Unidades</i>	<i>Tipo de anticoagulante</i>			<i>P</i>
		EDTA K3	TPF	CITRATO*	
<i>Hematíes</i>	10 ⁶ /mm ³	5,52	5,46	NA	0,015
<i>Leucocitos</i>	10 ³ /mm ³	5,99	5,66	NA	0,032
<i>Hemoglobina</i>	g/ dL	16,11	15,9	NA	0,02
<i>Hematocrito</i>	%	48,14	47,18	NA	0,019
<i>Plaquetas</i>	10 ⁹ /mm ³	257	230	NA	0,016
<i>Plaquetas</i>	10 ⁹ /mm ³	257	NA	291	0,034
<i>Plaquetas</i>	10 ⁹ /mm ³	NA	230	291	0,027

*El Citrato fue empleado únicamente para evaluar la cuantificación de plaquetas

En la tabla 6 se hace una comparación a diferentes tiempos de procesamiento con el mismo anticoagulante, EDTA, con la finalidad de determinar la estabilidad de los parámetros estudiados en un lapso de 4 horas.

Se evaluaron los resultados obtenidos con el EDTA y se puede apreciar que solamente el valor de hematíes y hemoglobina se conservan con el paso del tiempo. El resto de parámetros varía de forma significativa entre el primer y segundo procesamiento.

Tabla 6. Prueba *t-student* pareada comparando el valor de los parámetros estudiados en 2 diferentes tiempos de procesamiento con EDTA como anticoagulante

<i>Parámetro</i>	<i>Unidades</i>	<i>Tipo de anticoagulante</i>		<i>P</i>
		EDTA K3 t0	EDTA K3 t4	
<i>Hematíes</i>	10 ⁶ /mm ³	5,53	5,52	0,713
<i>Leucocitos</i>	10 ³ /mm ³	6,19	5,99	0,02
<i>Hemoglobina</i>	g/ dL	16,09	16,11	0,587
<i>Hematocrito</i>	%	47,8	48,14	0,03
<i>Plaquetas</i>	10 ⁹ /mm ³	266	257	0,034

En la tabla 7 se hace una comparación a diferentes tiempos de procesamiento con el mismo anticoagulante, TPF, con la finalidad de determinar la estabilidad de los parámetros estudiados en un lapso de 4 horas.

En este caso se puede observar que el único parámetro que permanece estable con el paso del tiempo es el valor de hematíes, ya que el resto de parámetros varía de forma significativa entre el primer y segundo procesamiento.

Tabla 7. Prueba *t-student* pareada comparando el valor de los parámetros estudiados en 2 diferentes tiempos de procesamiento con TPF como anticoagulante.

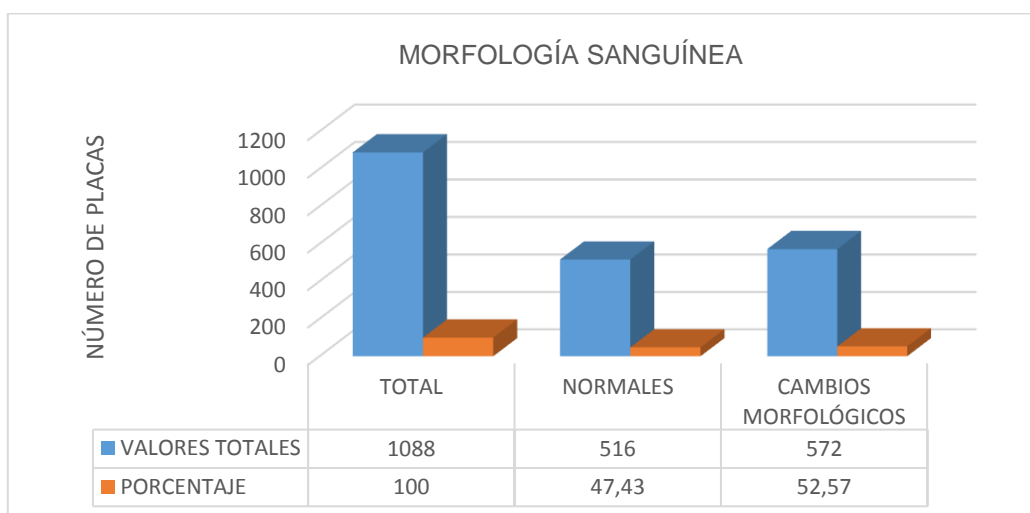
Parámetro	Unidades	Tipo de anticoagulante		P
		TPF t0	TPF t4	
Hematíes	10 ⁶ /mm ³	5,5	5,46	0,431
Leucocitos	10 ³ /mm ³	6,18	5,66	0,037
Hemoglobina	g/ dL	15,98	15,9	0,024
Hematocrito	%	47,65	47,18	0,009
Plaquetas	10 ⁹ /mm ³	243	230	0,016

4.3 Valoración de morfología celular

4.3.1. Observaciones Generales

Se evaluaron un total de 1088 placas, de las cuales un 47.43% resultaron normales en todos los parámetros evaluados, mientras que el 52,57% restante mostró al menos una alteración celular, como se muestra en el gráfico 6.

Gráfico 6. Distribución de los frotis observados según la existencia de alteración.

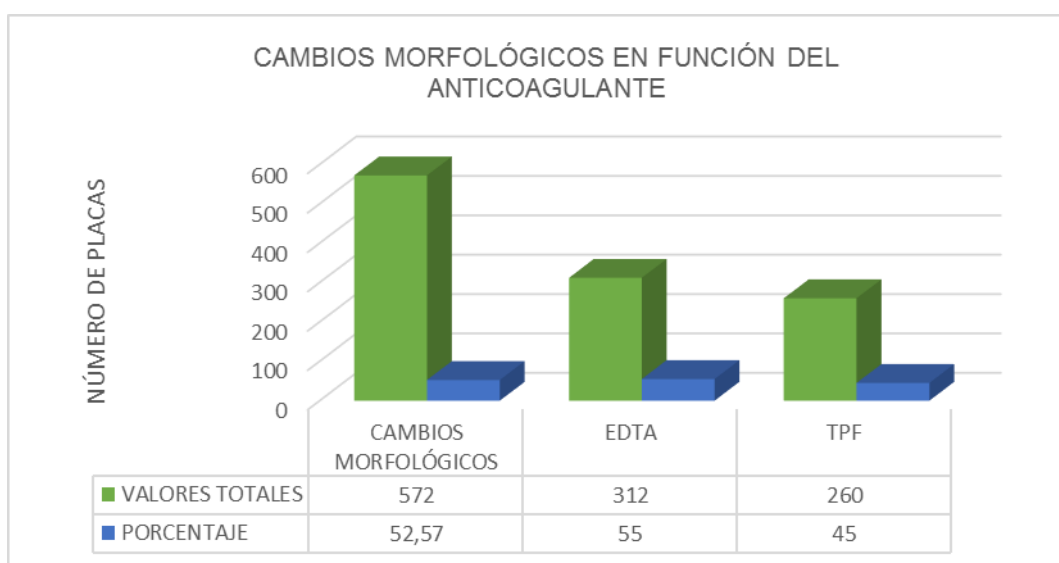


En el gráfico 7 se evidencia la frecuencia de alteraciones morfológicas según el tipo de anticoagulante empleado. Se obtuvo que las muestras tratadas con EDTA mostraron mayores diferencias, independientemente del tiempo transcurrido.

De un total de 572 muestras que presentaron algún tipo de cambio morfológico, 312 fueron observadas en muestras con EDTA y 260 en muestras con TPF; esto corresponde a un 55% y 45% de alteraciones, respectivamente.

A nivel general se puede ver que la mayoría de cambios se dan en muestras tratadas con EDTA y que el número de alteraciones se ve incrementado después de 4 horas de conservación de las muestras. Las muestras tratadas con TPF, aunque mostraron menos alteraciones morfológicas, éstas se fueron incrementando con el paso del tiempo.

Gráfico 7. Cambios morfológicos según el anticoagulante empleado



En la tabla 11 se resumen los cambios morfológicos hallados en función del tiempo y del anticoagulante. A nivel de eritrocitos, se evidenció una presencia importante de equinocitos, a nivel de neutrófilos y monocitos fue notoria la vacualización citoplasmática, en el caso de linfocitos se observó linfocitos atípicos o reactivos y vacualización del citoplasma, en plaquetas se pudo observar una presencia importante de macroplaquetas y en menor proporción de agregados plaquetarios.

Tabla 11. Anormalidades morfológicas encontradas en función del tiempo y del anticoagulante empleado

Células	Hallazgos Morfológicos	EDTA				TPF			
		≤1 hora		4-5 horas		≤1 hora		4-5 horas	
		Cualitativo	Porcentaje	Cualitativo	Porcentaje	Cualitativo	Porcentaje	Cualitativo	Porcentaje
Sanguíneas	Eritrocitos								
	Macroцитos	++	0,36	++	0,82	++	0,28	++	0,32
	Equinocitos	++	1,83	++	2,2	++	1,01	++	1,93
	Eliptocitos	+	0,18	+	0,18	+	0,09	+	0,18
	Dacriocitos	+	0,09	+	0,09		0		0
	Estomatocitos	+	0,09	+	0,12		0		0
	Dianocitos	+	0,09	+	0,09		0		0
Neutrófilos	Vacuolización del citoplasma	+	0,82	+	0,18		0		0,09
	Multilobulación	++	0,27		0,54	+	0,18		0,18
	Núcleo picnótico		0	+	0,09		0		0
	Blastos/ células inmaduras		0	++	0,18		0		0
Linfocitos	Linfocitos reactivos	++	1,29	+	1,74	++	0,83	++	1,01
	Vacuolización del citoplasma	++	1,47	++	1,75	++	0,46	++	0,64
	Núcleo picnótico	+	0,09	+	0,09		0		0
Monocitos	Vacuolización del citoplasma	++	1,01	++	2,02	++	0,92	++	1,27
Plaquetas	Macroplaquetas	++	6,7	++	9,93	++	5,05	++	8,09
	Agregados plaquetarios	++	1,01	++	1,56	++	2,48	++	2,21
	Degranulación	+	0,83	++	1,75	++	0,83	++	1,47
	Satelitismo Plaquetario	++	0,09	++	0,09		0	++	0,18

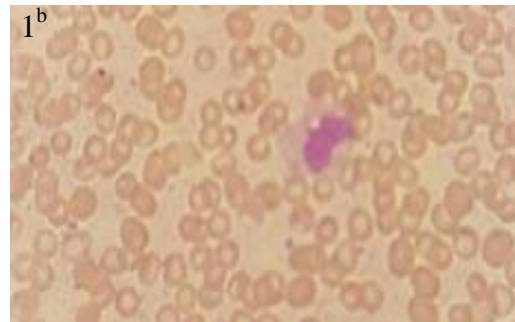
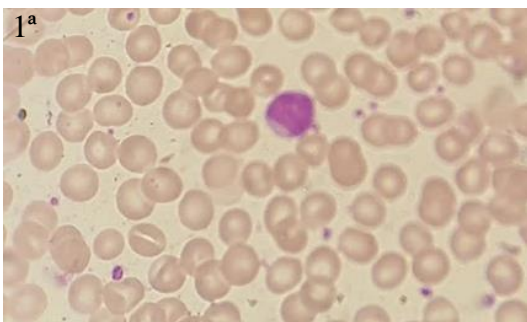
+ Cambios observados por menos del 50% de los observadores

++ Cambios observados por más del 50% de los observadores

4.3.2. Hallazgos Relevantes

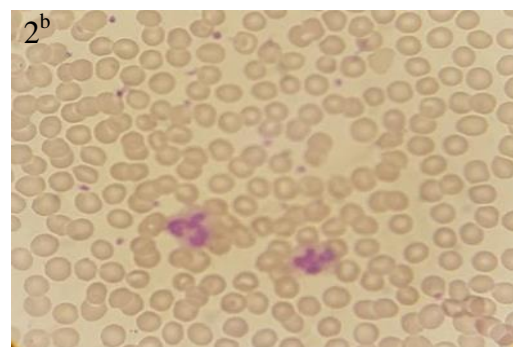
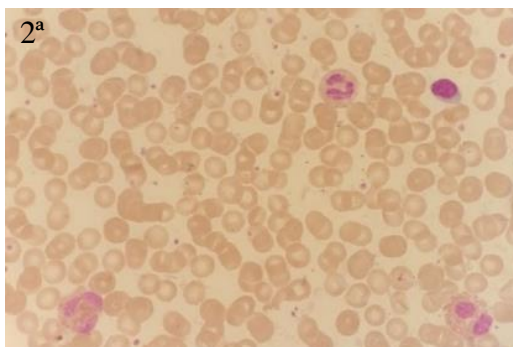
A continuación, se muestran algunas de las imágenes obtenidas durante la observación morfológica realizada a las muestras tratadas con EDTA y TPF.

La imagen 1^a corresponde a una muestra tratada con EDTA, se puede apreciar un linfocito, hematíes y plaquetas que conservan su morfología. Mientras que, en la imagen 1^b que también corresponde a una muestra tratada con EDTA, se puede observar un linfocito con una vacuola citoplasmática.



En las imágenes mostradas se evidencia el efecto del tiempo sobre diversas células sanguíneas en muestras tratadas con EDTA. La imagen 1^a es de una muestra recién recolectada y la imagen 1^b de una muestra después de 4 horas de haber extraído la sangre.

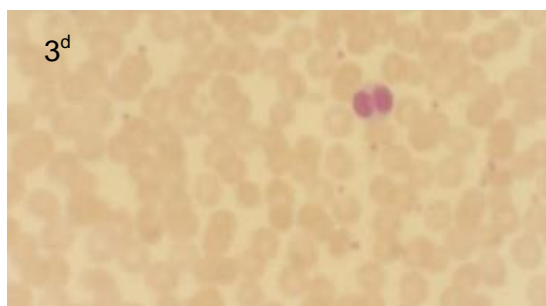
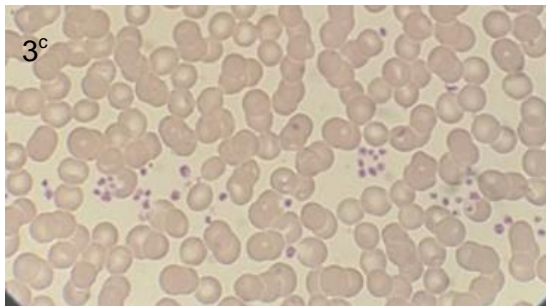
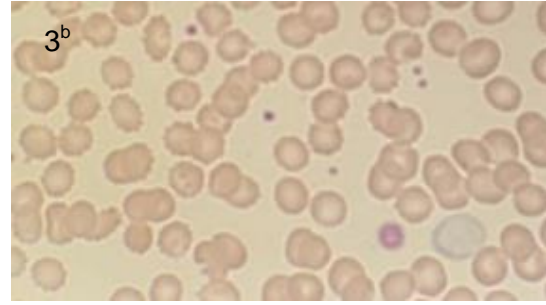
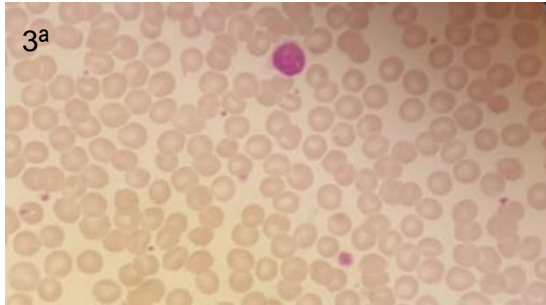
La imagen 2^a, por otro lado, corresponde a una muestra tratada con TPF, se puede apreciar un neutrófilo, linfocito, monocito, eosinófilo, hematíes y plaquetas que conservan su morfología. La imagen 2^b corresponde a una muestra tratada con TPF después de 4 horas de recolección de la muestra, pero no se logra apreciar ningún cambio morfológico importante.



Los frotis observados con TPF no mostraron diferencias a nivel de tinción ni de morfología en comparación con el EDTA.

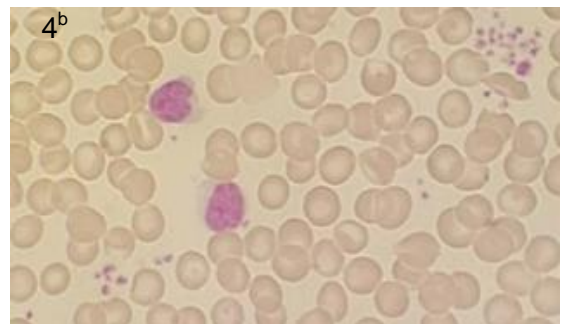
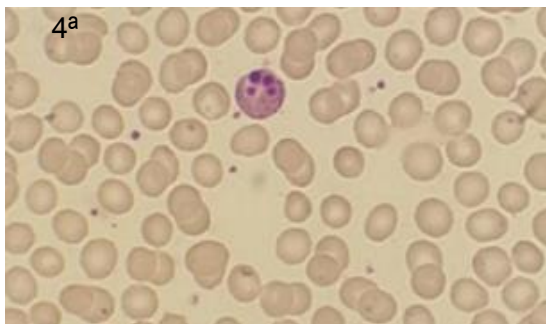
Las siguientes imágenes son de diversos cambios morfológicos encontrados en muestras con EDTA.

En la imagen 3^a se puede ver una macroplaqueta, la imagen 3^b es de una macroplaqueta degranulada, la imagen 3^c es de agregados plaquetarios y la imagen 3^d corresponde a un linfocito con núcleo picnótico.



Las imágenes que se presentan a continuación, corresponden a las alteraciones morfológicas encontradas en muestras tratadas con TPF.

En la imagen 4^a se observa un neutrófilo con núcleo picnótico y en la imagen 4^b se evidencia la presencia de pequeños agregados plaquetarios.



DISCUSIÓN

Previamente Rangel, en 2 estudios, probó la utilidad del TPF como anticoagulante para ser usado en hematología, obteniendo resultados favorables y orientativos a su uso en reemplazo del EDTA. No obstante, nuestros resultados indican que, aunque el TPF se compara con el EDTA en la determinación de 4 parámetros estudiados e incluso conserva de mejor manera la morfología celular, la cuantificación de plaquetas es significativamente inferior con TPF lo que nos lleva a dudar de una utilidad plena del anticoagulante en estudio.

Un aspecto importante que debe ser considerado es el desempeño del equipo empleado. Un estudio realizado por Leers y sus colaboradores, el cual compararon el desempeño de los equipos Cell Dynn y Sysmex XT-2000i, a través de índices de concordancia y BIAS. Se encontró que, en comparación con el Cell Dynn, el equipo fabricado por Roche tiene un menor desempeño con respecto al conteo plaquetario, ya que la media para el BIAS fue de 39.8 (restando valores obtenidos del Cell Dynn menos Sysmex), es así que posiblemente este aspecto contribuya con la diferencia encontrada en el recuento plaquetario en nuestro estudio. (Leers, Goertz, Feller, y Hoffmann, 2011)

Con respecto a la composición y pureza del anticoagulante empleado; en el estudio de referencia se menciona que se utilizó TPF técnico, pero no hay mayor información del producto por lo que puede que existan variaciones importantes que estén relacionadas con el efecto del anticoagulante. Así también, el hecho de que se hayan encontrado plaquetas agregadas en ciertas placas con TPF, es sugerente de que existe un factor que induce la activación plaquetaria. La bibliografía indica que el TPF disuelto en agua deja libres ciertos cationes y aniones, siendo estos últimos los que pueden generar que las plaquetas se activen y se agreguen. (Serrano et al, 1993) (Monteiro et al, 2011).

Existe la posibilidad de que el TPF cause el mismo fenómeno plaquetario que el EDTA dado que, los dos anticoagulantes tienen como mecanismo de acción la quelación del calcio, el mismo que es indispensable para conservar la estructura funcional del complejo glucoproteico IIb/IIIa localizado en la membrana plaquetaria. En ausencia de calcio, este complejo se disocia favoreciendo así la unión de autoanticuerpos, con una posterior aglutinación plaquetaria. (Fang, Chien, Yang, Lu, y Lin, 2015).

CONCLUSIONES

A partir de las muestras tratadas con EDTA y TPF se obtuvieron las medias para los siguientes parámetros: RBC, WBC, HB y HCT. Los valores obtenidos se encuentran en la tabla 4, mismos que no evidencian variaciones significativas estadísticamente, por lo tanto, se puede concluir que los valores obtenidos con el nuevo anticoagulante son comparables con los valores de EDTA y puede ser empleado en laboratorios de hematología que utilicen técnicas manuales.

Con respecto a los recuentos plaquetarios, se obtuvieron las medias de las muestras que fueron tratadas con citrato de sodio, EDTA y TPF. En este caso, si se encontraron variaciones significativas, ya que el TPF arrojó valores inferiores a los obtenidos con EDTA y citrato de sodio. Consecuentemente, se concluye que, contrario a lo encontrado en estudios previos, los valores de plaquetas obtenidos con el nuevo anticoagulante no son semejantes a los valores obtenidos con los anticoagulantes tradicionales, por lo tanto, el TPF no se recomienda para el conteo de plaquetas.

En base a lo antes mencionado, se concluye que, aunque el TPF es útil en la determinación de eritrocitos, leucocitos, hemoglobina y hematocrito, no tiene la misma utilidad para la cuantificación de plaquetas y esto limita su uso en laboratorios con equipos automatizados bajo las condiciones en las cuales se realizó el estudio. Sin embargo, en laboratorios de un nivel de complejidad básico, donde el procesamiento es manual y los parámetros a reportar incluyen RBC, WBC, HB y HCT el TPF podría ser empleado como un anticoagulante alternativo.

Una variable adicional y nueva que se manejó en el estudio fue el efecto del tiempo en la conservación de la muestra, y se pudo observar un evidente cambio a nivel cualitativo y cuantitativo de los parámetros en estudio. En las muestras tratadas con EDTA, los únicos parámetros que se mantuvieron estables después de 4 horas fueron el conteo de eritrocitos y el valor de hemoglobina. Mientras que, con TPF, el único parámetro que se mantuvo estable en el mismo lapso de tiempo fue el conteo de eritrocitos. Con estos resultados se concluye que, como establece el CLSI en su norma H26-A2 y el ICSH, una muestra debe ser procesada en un tiempo no mayor a las 2 horas después de la recolección; y si el análisis se posterga, se debe refrigerar (2-8°C) la muestra hasta por máximo 6 horas para poder ser analizada.

El estudio morfológico con respecto al tipo de anticoagulante, revela que del total de placas observadas, la mayor cantidad de alteraciones morfológicas se hallaron en aquellos frotis de muestras tratadas con EDTA. Sin embargo, también se observaron ciertas alteraciones en muestras tratadas con TPF y es posible concluir que el TPF conserva la morfología celular de una forma similar o incluso mejor que el EDTA.

Con todo lo mencionado previamente, podemos concluir que, en efecto, el TPF tiene propiedades anticoagulantes importantes, las mismas que pueden llegar a ser comparables a las que posee el EDTA, sin embargo, en este estudio se encontraron resultados que se contraponen a los reportados previamente donde se dice que el TPF es un mejor estimador de plaquetas con respecto al EDTA. Es importante acotar y esclarecer que, en este estudio se manejaron otras condiciones de trabajo como el tipo de tubo para la recolección de las muestras, el volumen de sangre extraído, el equipo hematológico empleado; todas estas condiciones pudieron influir para que se genere este resultado.

No obstante, consideramos que el TPF puede ser una opción a ser tomada en cuenta en laboratorios que manejan técnicas de procesamiento manual donde se puede determinar el valor de eritrocitos, leucocitos, hemoglobina y hematocrito, así como datos de morfología celular, obteniendo resultados confiables y de utilidad clínica. Esto sumado a que el TPF es un componente de bajo costo con relación al EDTA y al citrato de sodio, lo convierte en una alternativa potencial para su uso en el laboratorio clínico.

RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar un nuevo estudio tomando como población a pacientes que presenten trombocitopenia, para determinar si en estos casos el TPF puede ser utilizado para realizar una mejor valoración del conteo plaquetario.

Se sugiere realizar un estudio similar al realizado y en el que la variable a considerar sea la temperatura (ambiente y refrigeración) de conservación de la muestra para determinar si existen diferencias en conteos celulares y en la valoración de la morfología; y esto se pueda relacionar con la estabilidad del anticoagulante. Dicha variable no fue considerada dentro de este estudio ya que se consideraron más variables con respecto a los estudios previamente realizados.

Para estudios posteriores se debería tomar en cuenta los estudios de desempeño entre un equipo y otro, en determinados parámetros; por lo cual se recomienda considerar estas variaciones intrínsecas de los equipos al momento de realizar la calificación del mismo para posterior uso dentro de un estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- Adewoyin, A. S. (2014). Peripheral blood film - A review. *Annals of Ibadan Postgraduate Medicine*, 12(2), 71–79.
- Aguay, A. (2013). Calificación del disolutor ATG Dissolution Systems de Qualipharm Laboratorio Farmacéutico y Validación del método de disolución. Recuperado a partir de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/2465>
- Aranda Torrelío, E. (2011). El hemograma como instrumento diagnóstico básico en pediatría. *Revista de la Sociedad Boliviana de Pediatría*, 50(2), 139-146.
- American Cancer Society. (2015). Leucemia en niños. American Cancer Society, 1.62.
- Antwi-Baffour, S. (2013). Prolong Storage of Blood in EDTA Has an Effect on the Morphology and Osmotic Fragility of Erythrocytes. *International Journal of Biomedical Science and Engineering*, 1(2), 20. <http://doi.org/10.11648/j.ijbse.20130102.11>
- Baeza, P. (2010). Los Quelatos en la Agricultura. Obtenido de <http://www.disper.info/castellano/descargas/4/8>
- Bahadir, A., Erduran, E., Dilber, B., y Ucuncu, N. (2012). EDTA-Dependent Pseudothrombocytopenia. *Turkish Journal of Hematology*, 29(3), 311–312. <http://doi.org/10.5505/tjh.2012.60973>
- Baig, M. A. (2013). To Test the Accuracy of Platelet Count, as Corrected by Citrate Anticoagulant in EDTA Induced Pseudo-Thrombocytopenia. *International Journal of Science and Research (IJSR)*, 4(8). Recuperado a partir de <http://www.ijsr.net/archive/v4i8/SUB157394.pdf>
- Bain, B. (2014). *Blood Cells: A practical Guide Fifth Edition*. Oxford: Wiley Blackwell.
- Bain, B., Mitchell, S., Bates, I., y Dacie, J. (2012). *Dacie and Lewis Practical Haematology*. España: Elsevier
- Barth, D. (2012). Approach to peripheral blood film assessment for pathologists. *Seminars in Diagnostic Pathology*, 29(1), 31–48. <http://doi.org/10.1053/j.semmp.2011.07.003>

- Bowen, R. A. R., y Remaley, A. T. (2014). Interferences from blood collection tube components on clinical chemistry assays. *Biochemia Medica*, 24(1), 31–44. <https://doi.org/10.11613/BM.2014.006>
- Biblioteca Virtual en Salud Desarrollo Sostenible y Salud. (2005). Manual de Mantenimiento de equipos de Laboratorio: CAPÍTULO 16 Pipetas. *Organización Panamericana de la Salud*, 177-188.
- Campuzano-Maya, G. (2013). Interpretación del hemograma automatizado: claves para una mejor utilización de la prueba. *Medicina y Laboratorio*, 19, 11-68.
- Carr, J. H., y Rodak, B. F. (2010). Atlas de hematología clínica / Clinical Hematology Atlas. Ed. Médica Panamericana. Salto, A., Fontana, S., Marquesoni, E., y Casale, M. (2012). Valoración de índices plaquetarios en las trombocitopenias. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 1, 23-30.
- Carrillo-Esper, R., y Contreras-Domínguez, V. (2004). Pseudotrombocitopenia inducida por ácido etilendiaminotetraacético en pacientes con quemaduras. *Cirugía y Cirujanos*, 72(4), 335–338.
- Chakrabarti, I. (2014). Platelet Satellitism: A Rare, Interesting, In Vitro Phenomenon. *Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion*, 30(3), 213–214. <http://doi.org/10.1007/s12288-013-0247-2>
- Condori López, P. (2011). Reacción antígeno anticuerpo. *Revista de Actualización Clínica*, 671-674.
- Contreras Villa, D. (2013). Origen y destino de los megacariocitos. *Morfología*; Vol. 5, Núm. 3, 3-15. Obtenido de <http://www.bdigital.unal.edu.co/38637>
- Correa, J. C., Morales, C. H., y Sanabria, Á. E. (2016). Splenic abscess: percutaneous drainage or splenectomy? *Revista Colombiana de Cirugía*, 31(1), 50–56.
- Díaz Piedra, P., Olay Fuentes, G., Hernández Gómez, R., Cervantes-Villagrana, D., y Presno-Bernal, J. (2012). Determinación de los intervalos de referencia de biometría hemática en población mexicana. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica*, 243-250.

- Duarte Romero, M. (2013). Manual del hemograma y el frotis de sangre periférica. Recuperado a partir de <http://public.ebib.com/choice/publicfullrecord.aspx?p=3213353>
- Estudillo Martínez, M. (2014). Pseudotrombocitopenia dependiente de EDTA, un fenómeno impactante en el diagnóstico clínico por laboratorio. Universidad Veracruzana, México. Recuperado a partir de <http://cdigital.uv.mx/handle/123456789/39742>
- Fang, C. H., Chien, Y. L., Yang, L. M., Lu, W. J., y Lin, M. F. (2015). EDTA-dependent pseudothrombocytopenia. *Formosan Journal of Surgery*, 48(3), 107–109. <http://doi.org/10.1016/j.fjs.2015.01.003>
- Gallego, A., Garcinuño, M., Morcillo, J., & Vásquez, Á. (2013). Química básica. Madrid, España. Editorial UNED.
- Gómez Baute, R., Guerra Alfonso, T., Dita Salabert, L., Fernández Águila, J., y Cabrera Zamora, M. (2011). Teoría celular de la coagulación: de las cascadas a las membranas celulares. *Revista Electrónica de las Ciencias Médicas en Cienfuegos*, 9(2), 65-74.
- Gupta, K., Nayak, D., Manohar, C., y Belurkar, S. V. (2014). In-vitro leucoagglutination: a study of 11 cases. *International Journal of Current Research and Review*, 6(15), 45.
- Hernández Reyes, L., y Fundora, T. (2014). El hemograma: nueva clasificación y perspectivas. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia.*, 30(1), 89-92.
- International Organization for Standardization. (2002). Piston-operated volumetric apparatus —Part 2: Piston Pipettes. *ISO*, 1-18.
- International Organization for Standardization. (2004). "Agua para uso en análisis de laboratorio. Especificaciones y método de ensayo". *ISO*, 1-12.
- Juretschke, M., y Barbosa, C. (2013). Tromboembolismo Pulmonar. Obtenido de http://neumomadrid.org/descargas/monog_neumomadrid_iv.pdf
- Kaushansky, K., Prchal, J., Press, O., Lichtman, M., Levi, M., Burns, L., y Caligiuri, M. (2016). *Williams Hematology Ninth Edition*. United States: McGraw-Hill.

- Kim, H. J., Moh, I. H., Yoo, H., Son, S., Jung, D. H., Lee, H. G. y Kim, J. H. (2012). Ethylenediaminetetraacetic acid- dependent pseudothrombocytopenia associated with neuroendocrine carcinoma: A case report. *Oncology letters*, 4(1), 86-88.
- Kishore, M., Nayak, D., y Manohar, C. (2014). Platelet Satellitism: A Culprit for Spurious Thrombocytopenia. *British Biomedical Bulletin*, 2(1), 230–234.
- Kottke-Marchant, K., y Davis, B. (2012). *Laboratory Hematology Practice*. Oxford: Wiley-Blackwell.
- Kumura T, Hino M, Yamane T, Tominaga K, Tatsumi N. Hirudin as an anticoagulant for both haematology and chemistry tests. *J Autom Methods Manage Chem* 2000;22(4):109-12.
- Leers, M. P. G., Goertz, H., Feller, A., y Hoffmann, J. J. M. L. (2011). Performance evaluation of the Abbott CELL-DYN Ruby and the Sysmex XT-2000i haematology analyzers: EVALUATION OF CELL-DYN RUBY AND XT-2000I. *International Journal of Laboratory Hematology*, 33(1), 19–29. <https://doi.org/10.1111/j.1751-553X.2010.01230.x>
- López, J. (2012). Bilirrubina una vieja amiga con una nueva historia. *Revista de Investigación Médica Sur de Mexico*, 228-234.
- López-Villar, O., García, J. L., Sánchez-Guijo, F. M., Robledo, C., Villarón, E. M., Hernández-Campo, P. (2012). Guías españolas de diagnóstico y tratamiento de los síndromes mielodisplásicos y la leucemia mielomonocítica crónica. *Leukemia*, 97(4), 664–672.
- Maya, G. C. (2008). Utilidad clínica del extendido de sangre periférica: los eritrocitos y leucocitos. *Medicina y Laboratorio*, 14, 311–357.
- Mayer, L. E., Bertoluzzo, S. M., y Bertoluzzo, M. G. (2012). Determinación del agregado mínimo de tripolifosfato de sodio en pastones cárnicos. In *Anales Afa* (Vol. 22). Retrieved from <http://anales.fisica.org.ar/journal/index.php/analesafa/article/view/21>
- Maczy, G., Yuliana, C., Diana, F., Maria, G., Maribel, Q., Lisbeth, R., Jessica, V. (2007). Utilidad del Tripolifosfato de Sodio en la tipificación de grupos sanguíneos y factor Rh en escolares. Recuperado a partir de <http://actacientifica.svbe.org/actacientifica/2007/1/art11.pdf>

- Marco-Schulkea, C., Sánchez-Casadoa, M., Hortigüela-Martína, V., Quintana-Díaz, M., Rodríguez-Villar, S., Pérez-Pedreroa, M., Arrese-Coscolluelaa, M. (2012). Trombocitopenia grave al ingreso en una unidad de cuidados intensivos en pacientes con disfunción multiorgánica. *Med Intensiva.*, 36(3), 185-192.
- Milevoj Kopcinovic, L., y Pavic, M. (2012). Platelet satellitism in a trauma patient. *Biochemia médica*, 22(1), 130–133.
- Mosquera, Y. y Rivera, N. (2016). Identificación de Hepatitis B oculta (OBI) en donantes voluntarios de sangre con serología reactiva, mediante la técnica molecular de PCR, en la unidad de banco de sangre del hospital “Carlos Andrade Marín” en el período 2015 (Tesis). PUCE. Recuperado a partir de <http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/10942>
- Naidis, I., y Turpeinen, S. (2010). Directrices para la validación de métodos analíticos y la calibración del equipo utilizado para el análisis de drogas ilícitas en materiales incautados y especímenes biológicos. Viena: Naciones Unidas. Obtenido de https://www.unodc.org/documents/scientific/Validation_Manual_STNAR41_Ebook_S.pdf
- Nayak, D., Patil, A., y Dhakal, R. (2013). Leucoagglutination in vitro. *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences*, 2(5), 467–472.
- Neunert, C., Lim, W., Crowther, M., Cohen, A., Solberg, L., y Crowther, M. A. (2011). The American Society of Hematology 2011 evidence-based practice guideline for immune thrombocytopenia. *Blood*, 117(16), 4190–4207. <http://doi.org/10.1182/blood-2010-08-302984>
- Olteanu, A. L. (2015). The impact of pre-analytical variable, type of anticoagulant and time delay, on the measurement of mean platelet volume. *HVM Bioflux*, 7(2), 60–64.
- Organización Mundial de la Salud. Concentraciones de hemoglobina para diagnosticar la anemia y evaluar su gravedad. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2011. (WHO/NMH/NHD/MNM/11.1) (http://www.who.int/vmnis/indicators/haemoglobin_es.pdf, consultado el 20 de junio del 2017).
- Organización Panamericana de la Salud. (2005). Manual de mantenimiento para equipo de laboratorio. Washington, DC: OPS.

- Oza, N. S., Ingole, N. S., y Gangane, N. M. (2014). Study of Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) - Dependent Pseudothrombocytopenia. *Acta Medica Scientia*, 1(1), 01–05.
- Palmer, L., Briggs, c., Mcfadden, S., Zini, G., Burthem, J., Rozenberg, G., Machin, S. (2014). ICSH recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphological features. *International Journal of Laboratory Hematology*, 1-17. doi:10.1111/ijlh.12327
- Palmeira de Oliveira, R., Palmeira de Oliveira, A., Gaspar, C., Silvestre, S., Martínez-de-Oliveira, J., Amaral, M. H., y Breitenfeld, L. (2011). Sodium Tripolyphosphate: An excipient with intrinsic in vitro anti-Candida activity. *International Journal of Pharmaceutics*, 421(1), 130–134. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.09.030>
- Patel, N. (2009). Why is EDTA the anticoagulant of choice for hematology use? *TechTalk*, 1-2
- Peerschke, E. I. B., Castellone, D. D., Stroobants, A. K., y Francis, J. (2014). Reference Range Determination for Whole-Blood Platelet Aggregation Using the Multiplate Analyzer. *American Journal of Clinical Pathology*, 142(5), 647–656. <http://doi.org/10.1309/AJCPP43SEYCBJLHJ>
- Rangel Matos, L., Quintero de Troconis, M., Archile Contreras, A., Benítez Payares, B., González Rincón, M., Ruiz Medina, A., Herrera, J. (2009). Evaluación del tripolifosfato de sodio como anticoagulante en determinaciones hematológicas en seres humanos. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 25(2), 34–44.
- Rabonovitch, A., Barnes, P., Curcio, K., Dorman, J., Huisman, A., Nguyen, L., y O'Neil, P. (2010). H26-A2: Validation, Verification, and Quality. Assurance of Automated Hematology Analyzers; Approved Standard- Second Edition. *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 30(14), 1-108.
- Retamales Castelletto, E. (2015). Recomendaciones para la interpretación del hemograma: serie roja, blanca y plaquetaria. Instituto de salud pública de Chile, 1-24.
- Saldaña, E. (2013). *Manual de Terminología Médica*. Lima-Perú: LNS.

- Sysmex Corporation. (2005). Instrucciones de uso Analizador hematológico Sysmex XT-2000i/XT-1800i™. *Sysmex Corporation KOBE (Japón)*, 1-120.
- Sociedad Brasileña de Patología Clínica Medicina Laboratorial. (2010). La extracción de sangre venosa (2ª ed.). Brasil: Manole.
- Senthilkumaran, S., Menezes, R., Jena, N., y Thirumalaikolundusubramanian, P. (2013). Pseudothrombocytopenia in perioperative patient: A significant laboratory artifact. *Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology*, 29(4), 553. <http://doi.org/10.4103/0970-9185.119152>
- Shrestha, A., y Karki, S. (2014). Evaluation of EDTA induced pseudothrombocytopenia and the effect of alternative anticoagulants. *Journal of Pathology of Nepal*, 4(8), 626–629.
- Sudha, P., y Koshy, R. C. (2013). Ethylene diamine tetra acetic acid pseudothrombocytopenia: A must to know entity for Anaesthesiologists. *Indian Journal of Anaesthesia*, 57(3), 309–310. <http://doi.org/10.4103/0019-5049.115579>
- Tomicic, M., Vuk, T., y Gulan-Harcet, J. (2015). Anticoagulant-induced pseudothrombocytopenia in blood donors: Letter to the Editor. *Transfusion Medicine*, 25(1), 47–48. <http://doi.org/10.1111/tme.12190>
- Torrens, M. (2015). Interpretación clínica del hemograma. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 26(6), 713-725.
- Turgeon, M. L. (2012). *Clinical hematology: theory and procedures*. Philadelphia, PA: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams and Wilkins.
- Ughachukwu, P. O. (2012). Comparative studies on anticoagulant properties of aqueous leaf extract of *Euphorbia heterophylla* and ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA). *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(17). <https://doi.org/10.5897/JMPR12.449>
- Vagace, J. M., Rodriguez, M. A., de la Maya, M. D., y Gervasini, G. (2013). Ethylenediaminetetraacetic acid-dependent pseudomacrocytosis. *Journal of Clinical Pathology*, 66(9), 811–814. <http://doi.org/10.1136/jclinpath-2013-201545>
- Verstovsek, S. (2012). Información sobre la policitemia vera. *The Leukemia and Lymphoma Society*, 1-6.

- Vives-Corróns, J.-L., Briggs, C., Simon-Lopez, R., Albareda, S., La Salle, B., Flegar-Meatrui, Z., others. (2014). Effect of EDTA-anticoagulated whole blood storage on cell morphology examination. A need for standardization. *International journal of laboratory hematology*, 36(2), 222–226.
- Westgard, J. (2015). *Prácticas Básicas de Control de Calidad* (pp. 1–305). WALLACE COULTER. Obtenido de: <http://www.ifcc.org/media/333582/2015%20Pr%C3%A1cticas%20B%C3%A1sicas%20de%20Control%20de%20Calidad.pdf>
- Wiley, J. (2015). Corticoesteroides perioperatorios para la prevención de las complicaciones después de una cirugía plástica facial. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 122-124. doi:10.1002/14651858.CD009697
- Xiao, Y., y Xu, Y. (2015). Concomitant spuriously elevated white blood cell count, a previously underestimated phenomenon in EDTA-dependent pseudothrombocytopenia. *Platelets*, 26(7), 627–631. <http://doi.org/10.3109/09537104.2014.963543>
- Zicre, D. (2012). *Patología FCM*. Obtenido de <http://www.patologiafcm.com.ar/wp-content/uploads/downloads/2012/04/Neoplasia.pdf>

ANEXOS

ANEXO 1. Consentimiento Informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

Título de la investigación: “Estudio piloto para establecer la utilidad del Tripolifosfato de sodio (TPF) como anticoagulante de elección en la realización de pruebas hematológicas en un laboratorio de la ciudad de Quito”

Investigadores principales

1. Sandra Carolina López Jiménez, estudiante de la Facultad de Medicina carrera de Bioquímica Clínica de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

Teléfono de contacto: 0995082729

Correo electrónico: caritolopezi@gmail.com, slopez271@puce.edu.ec

2. Evelyn Sofía Vivanco Vélez, estudiante de la Facultad de Medicina carrera de Bioquímica Clínica de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador

Teléfono de contacto: 0969267505

Correo electrónico: soflvivanco93@gmail.com, evivanco239@puce.edu.ec

Este formulario de consentimiento es sólo una parte del proceso de consentimiento informado. La intención es darle una idea básica sobre la investigación y lo que su participación implica. Por favor, tómese su tiempo para leer este formulario atentamente y si usted siente que le gustaría obtener más información acerca de la investigación, por favor haga sus preguntas. Usted recibirá una copia de este formulario.

Antecedentes

Actualmente, la biometría hemática es un perfil que evalúa de forma cuantitativa y cualitativa las células sanguíneas, contribuyendo con el diagnóstico y seguimiento de diversas patologías. Esto hace que hoy por hoy, la biometría sea una de las principales y más demandadas pruebas de laboratorio, es de ahí que radica la importancia de garantizar resultados veraces y oportunos; los mismos que se logran al trabajar con un anticoagulante óptimo, un equipo bien controlado y personal capacitado.

Según normas internacionales, el EDTA es el anticoagulante de elección para realizar este tipo de exámenes, pero en varios estudios se ha demostrado que este anticoagulante causa alteraciones importantes que pueden derivar en la realización de procesos injustificados y muchas veces riesgosos para la salud del paciente como transfusiones de concentrados plaquetarios, biopsia de médula ósea, esplenectomía, postergación de procedimientos quirúrgicos, así como tratamientos con inmunoglobulina intravenosa, corticoesteroides, trombopoyetina y factores de crecimiento.

Procedimiento

El estudio a realizar consiste en la extracción de sangre venosa mediante punción al vacío para obtener un total de 11.5 mL de sangre, la misma que será recolectada en

un tubo con EDTA, citrato de sodio y TPF. Las muestras recolectadas serán analizadas inmediatamente y después de 4 horas de haberlas recolectado. El análisis será de forma automatizada y manual y los resultados obtenidos serán enviados a su mail o los puede retirar personalmente en el laboratorio clínico del hospital.

Propósito

Con los resultados obtenidos será posible determinar si el TPF cumple con los requisitos establecidos para considerar su uso en determinaciones hematológicas y que, a diferencia del EDTA, no produzca alteraciones cualitativas y/o cuantitativas. De esta forma, se puede proponer la realización de estudios más profundos que permitan concluir la utilidad del TPF para considerarlo, más adelante, como el anticoagulante de elección en determinaciones hematológicas y sustituir al EDTA.

Tiempo de duración y tipo de participación

Se estima que el estudio durará en total 3 meses, desde la recolección, procesamiento de datos e interpretación de los mismos. Sin embargo, su participación en el estudio se limitará a la extracción de sangre venosa mediante punción, por una sola ocasión.

Para proceder con la extracción y recolección de sangre venosa es necesario que usted firme este consentimiento informado, que acuda al laboratorio entre las 06:30 y 10:00 para la toma de muestras y aunque no es necesario que esté en ayunas, se recomienda tener una dieta baja en grasas por lo menos un día antes a la realización del examen.

Riesgos

No se presentan riesgos durante su participación. Sin embargo, puede que presente una sensación de ansiedad y dolor (momentáneo) cuando se realice la extracción de sangre. En el caso de que usted sufra lesiones como resultado de su participación en esta investigación, se respaldará su atención si se confirma que las lesiones son secundarias a nuestra intervención.

Participación voluntaria

Su participación en esta investigación es completamente voluntaria. Usted puede elegir participar o no, sin que los servicios que usted recibe en esta unidad de salud se vean afectados bajo ningún concepto. Usted puede cambiar de idea más tarde y dejar de participar aun cuando haya aceptado antes sin renunciar a ningún reclamo, derecho o recurso. Adicionalmente, usted no tendrá que pagar nada por participar en el estudio y tampoco recibirá ningún tipo de beneficio económico directo.

Confidencialidad

Se mantendrá la confidencialidad de cualquier información personal que se obtenga en relación con este estudio y solo ante recurso legal se facilitará a los entes oficiales si así se solicita. Los datos se introducirán en una base de datos segura, a la que sólo los investigadores con clave, tendrán acceso. Usted será identificado por un número en la base de datos. La base de datos no contiene información que puede ser usada para identificarlo directamente. La información personal que se puede utilizar para identificarlo será grabada en una carpeta y guardada en un lugar seguro. Todos los datos de identificación y documentos físicos serán destruidos después de 5 años, según las directrices locales.

FIRMAS

Su firma en este formulario indica que usted ha entendido satisfactoriamente la información sobre su participación en el proyecto de investigación y está de acuerdo en participar. De ninguna manera renuncia a sus derechos legales, ni libera a los investigadores de sus responsabilidades legales y profesionales. Usted es libre de retirarse del estudio en cualquier momento sin poner en riesgo su atención médica.

Si tiene más preguntas sobre los asuntos relacionados con esta investigación, por favor póngase en contacto con:

Carolina López – Sofía Vivanco
Teléfono: 0995082729 – 0969267505
E-mail: caritlopezj@gmail.com – sofivivanco93@gmail.com

_____ Firma

a) Nombre del/la participante

_____ Firma

b) Nombre del representante

(En caso de personas discapacitadas)

_____ Firma

c) Nombre del Investigador (1)

_____ Firma

d) Nombre del Investigador (2)

Una copia firmada de este formulario de consentimiento queda en manos del participante para que la guarde y la conserve.

RETRACCIÓN DEL PACIENTE:

Título del estudio:

Motivo de la retracción (opcional): _____

_____ Firma

Nombre del/la participante o representante

Fecha: _____

ANEXO 2. Solicitud de autorización al Hospital "Carlos Andrade Marín"

Quito, 15 de Agosto del 2016

Dr. Patricio Yáñez

Jefe de la Unidad de la Unidad de Patología Clínica HCAM

Presente.-

Sandra Carolina López Jiménez con C.I. 1723290654 y Evelyn Sofía Vivanco Vélez con C.I. 1724718372, en calidad de estudiantes de la carrera de Bioquímica Clínica de la Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, solicitamos a usted muy comedidamente nos autorice la recolección de muestras sanguíneas, así como el procesamiento de las mismas en el equipo Sysmex XT-1800i ubicado en el laboratorio de Hematología de la unidad que Ud. tan acertadamente dirige. Esto corresponde a la parte práctica de la disertación titulada "Estudio piloto para establecer la utilidad del Tripolifosfato de sodio (TPF) como anticoagulante de elección en la realización de pruebas hematológicas en un laboratorio de la ciudad de Quito, septiembre a noviembre del 2016".

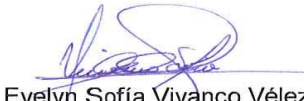
Por la atención que se digne dar a la presente le reiteramos nuestro agradecimiento y consideración.

Atentamente,



Sandra Carolina López Jiménez

C.I. 1723290654



Evelyn Sofía Vivanco Vélez

1724718372

*Recibido y
aprobado
R. Yáñez*



Dr. Cesar P. Yáñez V
PATÓLOGO CLÍNICO
MSP: L1 "T", F10, No 29 CMP 5411

ANEXO 3: Solicitud de autorización de recolección de muestras Banco Sangre



INSTITUTO ECUATORIANO DE SEGURIDAD SOCIAL
HOSPITAL "CARLOS ANDRADE MARIN"

Quito, D.M., 19 de octubre de 2016

Señores:
FACULTAD DE MEDICINA
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
Presente.-

De mi consideración:

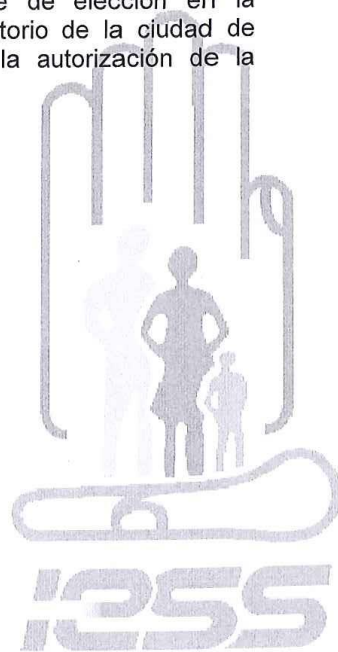
Mediante la presente me permito hacer llegar la aceptación por parte de la Unidad de Banco de Sangre del Hospital Carlos Andrade Marín, quien colaborará con el desarrollo investigativo de las Srta. Evelyn Sofía Vivanco Vélez con C.I. 1724718372 y Sandra Carolina López Jiménez con C.I. 1723290654, cuyo tema es "Estudio piloto para establecer la utilidad del Tripolifosfato de sodio (TPF) como anticoagulante de elección en la realización de pruebas hematológicas en un laboratorio de la ciudad de Quito, septiembre a noviembre del 2016", previa la autorización de la Institución, trámite que está en proceso.

Con sentimientos de distinguida consideración.

Atentamente,

Martha Gabela

JEFE DE LA UNIDAD DE BANCO DE SANGRE
HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARÍN



Av. 18 de Septiembre S/N y Ayacucho Teléf. 2944200/300
Quito – Ecuador

**Renovar para actuar,
actuar para servir**

Quito, 15 de Septiembre del 2016

Lcda. Martha Gabela

Unidad de Banco de Sangre HCAM

Presente.-

Sandra Carolina López Jiménez con C.I. 1723290654 y Evelyn Sofía Vivanco Vélez con C.I. 1724718372, en calidad de estudiantes de la carrera de Bioquímica Clínica de la Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, solicitamos a usted muy comedidamente nos autorice la recolección de muestras sanguíneas para la realización de la disertación titulada "Estudio piloto para establecer la utilidad del Tripolifosfato de sodio (TPF) como anticoagulante de elección en la realización de pruebas hematológicas en un laboratorio de la ciudad de Quito, septiembre a noviembre del 2016".

Por la atención que se digne dar a la presente le reiteramos nuestro agradecimiento y consideración.

Atentamente,



Sandra Carolina López Jiménez

C.I. 1723290654



Evelyn Sofía Vivanco Vélez

1724718372

Recibido 15/09/2016
M. Gabela

ANEXO 4. Certificado de calibración Balanza Analítica BOECO

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN		 Servicio de Acreditación Ecuatoriano Acreditación N° SAE LCA 16-001 LABORATORIO DE CALIBRACIÓN
		SOLUCIONES ESPECIALIZADAS EN CALIDAD Y METROLOGÍA
Adhesivo No. 000145		
Pedido No.	2016-CA-171	Certificado No. SECM-B-2016-092
Fecha de calibración	2016-09-14	<p>Este certificado de calibración documenta la trazabilidad hacia el Patrón Nacional del masa del Laboratorio Nacional de Metrología del Ecuador, el cual es trazable a la realización de la unidad de medida de acuerdo al Sistema Internacional de Unidades (SI).</p> <p>La incertidumbre de medida se obtuvo multiplicando la incertidumbre estándar combinada por un factor de cobertura $k=2$, el cual corresponde a un nivel de confianza de aproximadamente 95% bajo la suposición de que la función de densidad de probabilidad del mensurando es normal. La incertidumbre de la medición fue estimada de acuerdo al documento "Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement". BIPM. First edition - September 2008.</p> <p>Es responsabilidad del usuario establecer la fecha de una nueva calibración del instrumento. Este documento no es un certificado de calidad, relaciona los resultados con los items calibrados en el momento de la calibración. El tiempo de validez de los resultados depende tanto de las características del instrumento calibrado como de las prácticas para su manejo y uso.</p> <p>No es recomendable la reproducción parcial de este certificado ya que puede dar lugar a interpretaciones equivocadas de sus resultados.</p>
Objeto	Balanza	
Marca	BOECO	
Modelo:	BAS 31 PLUS	
Serie	432793/14	
Identificación	2127425	
Capacidad	220 g	
Div. Escala	0,0001 g	
Div. Escala de Verificación	0,001 g	
Clase de exactitud	I; Especial	
Tipo de indicación	Digital	<p>No es recomendable la reproducción parcial de este certificado ya que puede dar lugar a interpretaciones equivocadas de sus resultados.</p>
Ubicación	Laboratorio de Biología Molecular	
Cliente	DISerLab - PUCE	
Dirección	Avenida 12 de Octubre 1076 y Vicente Ramón Roca (PUCE)	
Observaciones	*****	
SECalMet no se responsabiliza del uso indebido de este certificado		
Calibrado por:	Autorizado por:	Fecha de emisión:
 Fis. René Chanchay Técnico de laboratorio	 Dra. Mónica Gualotuña Directora de Calidad	2016-09-14
 SECALMET SOLUCIONES ESPECIALIZADAS EN CALIDAD Y METROLOGÍA CIA.LTDA.		
Nayón: Segundo Corella N1-37 y calle Quito; Quito-Ecuador; Tel: 02-2884418 / 0990687624 / 0995230691; e-mail: secalmet.cia.ltda@gmail.com; web: http://secalmet.jimdo.com		

DISerLab - PUCE

Cert. No.: SECM-B-2016-092

Fecha de calibración: 2016-09-14

Pedido No.: 2016-CA-171

Procedimiento: Procedimiento PC 01, Procedimiento para la calibración de balanzas, basado en la Guía SIM para la calibración de instrumentos para pesar de funcionamiento no automático y la Recomendación Internacional OIML R76-1.

Lugar de la calib.: La calibración se realizó en las instalaciones de la empresa, bajo condiciones en las cuales opera normalmente el equipo.

To	Tf	Po	Pf	Ho	Hf	Dens. del aire
25,0 °C	24,7 °C	**** hPa	**** hPa	45 %	45 %	**** g/cm ³

Patrones y equipos utilizados:

Juego de pesas clase F1; Código SSF 1028, Certificado SECALMET No.: SECMI-M-2016-001

Resultados de la calibración

Excentricidad

L1	L2	L3	L4	L5	Exc. Max.	e.m.p.
g	g	g	g	g	g	g
100,0008	100,0010	100,0006	100,0004	100,0004	0,0004	0,0020

Linealidad

Masa Patrón	Lectura ASC.	Lectura DESC.	Error ASC.	Error DESC.	e.m.p.	U; k=2
g	g	g	g	g	g	g
0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0010	0,0006
0,1000	0,1000	0,1000	0,0000	0,0000	0,0010	0,0006
0,3000	0,3000	0,3000	0,0000	0,0000	0,0010	0,0006
0,5001	0,5000	0,5001	-0,0001	0,0000	0,0010	0,0006
1,0001	1,0000	1,0001	-0,0001	0,0000	0,0010	0,0006
3,0002	3,0002	3,0002	0,0000	0,0000	0,0010	0,0006
5,0002	5,0002	5,0003	0,0000	0,0001	0,0010	0,0006
10,0002	10,0003	10,0005	0,0001	0,0003	0,0010	0,0006
30,0003	30,0004	30,0005	0,0001	0,0002	0,0010	0,0006
50,0003	50,0008	50,0007	0,0005	0,0004	0,0010	0,0007
100,0005	100,0010	100,0011	0,0005	0,0006	0,0020	0,0008
200,0008	200,0016	200,0016	0,0008	0,0008	0,0020	0,0011

Repetibilidad

L1	L2	L3	L4	L5	Diferencia Max.	e.m.p.
g	g	g	g	g	g	g
100,0007	100,0007	100,0009	100,0002	100,0004	0,0007	0,0020

Resumen de resultados

Excentricidad Los de errores de la balanza para la prueba de excentricidad son menores a los permitidos en la norma NTE INEN OIML R76-1, numeral 3.5.1, 3.4.2 y 3.6.2.

Linealidad Los de errores de la balanza para la prueba de linealidad son menores a los permitidos en la norma NTE INEN OIML R76-1, numeral 3.5.1, 3.5.2 y 3.5.3.3.

Repetibilidad Los de errores de la balanza para la prueba de repetibilidad son menores a los permitidos en la norma NTE INEN OIML R76-1, numeral 3.5.1, 3.5.2 y 3.6.1.

Calibrado por: Fis. René Chanchav

SECaIMet

Revisado por:

Dra. Mónica Gualotufía

ANEXO 5. Certificado de calibración Pipeta HUMAN 100 uL

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN



SOLUCIONES ESPECIALIZADAS EN CALIDAD Y METROLOGÍA



Adhesivo No. 01084

Pedido No. 2016-CA-125 Certificado No. SECM-V-2016-545

Fecha de calibración	2016-08-03	Este certificado de calibración documenta la trazabilidad hacia el Patrón Nacional del masa del Laboratorio Nacional de Metrología del Ecuador, el cual es trazable a la realización de la unidad de medida de acuerdo al Sistema Internacional de Unidades (SI).
Objeto	Pipeta de pistón tipo A / D1	
Marca	Human	La incertidumbre de medida se obtuvo multiplicando la incertidumbre estándar combinada por un factor de cobertura $k=2$, el cual corresponde a un nivel de confianza de aproximadamente 95% bajo la suposición de que la función de densidad de probabilidad del mensurando es normal. La incertidumbre de la medición fue estimada de acuerdo al documento "Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement". BIPM. First edition - September 2008.
Modelo	Humapette	
Serie	YL4A067268	
Identificación	****	
Rango	100 μ L	Es responsabilidad del usuario establecer la fecha de una nueva calibración del instrumento. Este documento no es un certificado de calidad, relaciona los resultados con los ítems calibrados en el momento de la calibración. El tiempo de validez de los resultados depende tanto de las características del instrumento calibrado como de las prácticas para su manejo y uso.
División de Escala:	****	
Clase de exactitud:	****	
Material:	Acero inoxidable	No es recomendable la reproducción parcial de este certificado ya que puede dar lugar a interpretaciones equivocadas de sus resultados.
Cliente	Hospital Carlos Andrade Marín	
Dirección	Av. 18 de Septiembre y Ayacucho	
Observaciones	*****	

SECalMet no se responsabiliza del uso indebido de este certificado

Calibrado por:

Autorizado por:

Fecha de emisión:

2016-08-03

Fis. René Chanchay
Técnico de laboratorio

Dra. Mónica Gualotuña
Directora de Calidad

SECALMET SOLUCIONES
ESPECIALIZADAS EN CALIDAD Y
METROLOGÍA CIA.LTDA.

Nayón: Calle Segundo Corella N1-37 y calle Quito; Quito-Ecuador; Tel: 02-2884418 / 0990687624;
e-mail: secalmet.cia.ltda@gmail.com ; web: http://secalmet.jimdo.com/secalmet

Hospital Carlos Andrade Marín

Cert. No.: SECM-V-2016-545

Fecha de calibración: 2016-08-03

Pedido No.: 2016-CA-125

Procedimiento: Procedimiento PC 09, Procedimiento para calibración de medidas de volumen, método gravimétrico, basado en el procedimiento normalizado de operación SOP No. 14 del NIST y en la Guía técnica sobre trazabilidad en incertidumbre en los servicios de calibración de recipientes volumétricos por el método gravimétrico del CENAM.

Lugar de la calibración:

La calibración se realizó en el Laboratorio de SECalMet.

Condiciones ambientales del ensayo

To °C	Tf °C	Po hPa	Pf hPa	Ho %	Hf %	Dens. del aire g/cm ³
21,2	21,3	747,8	748,8	50,1	49,6	0,000880

Patrones y equipos utilizados

Patrones:

Agua destilada grado 3, según clasificación en la norma ISO 3696.

Balanzas

• Radwag; modelo: AS 60/220.R2; Serie: 444460; Id.: Balanza No. 5; Certificado No. SECM-B-2016-001

Resultados obtenidos

VOLUMEN PARA CONTENER

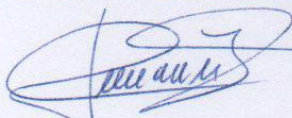
No.	Volumen Nominal a 20 °C µL	Volumen Medido a 20 °C µL	Corrección µL	U; k=2 µL	E.M.P µL

VOLUMEN PARA ENTREGAR

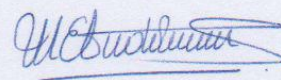
No.	Volumen Nominal a 20 °C µL	Volumen Medido a 20 °C µL	Corrección µL	U; k=2 µL	E.M.P µL
1	100	99,86	-0,14	0,30	0,80

EVALUACIÓN:

Los errores de los instrumentos son menores o iguales a los errores máximos permitidos establecidos en la norma NTE INEN-ISO 8655-2, primera edición, 2014-01, Aparatos volumétricos accionados mediante pistón parte 2: Pipetas tipo pistón, numeral 7.2, tabla 1.



SECalMet
SECALMET SOLUCIONES
ESPECIALIZADAS EN CALIDAD Y
METROLOGÍA CIA.LTDA.



ANEXO 6. Verificación Pipeta HUMAN 100 uL

ENSAYO DE VERIFICACIÓN

1. Datos informativos

Instrumento: Pipeta de pistón tipo A/D1

Marca: Human

Modelo: Humapette

Número de serie: YL4A067268

Rango: 100 uL

Material: Acero inoxidable

2. Condiciones ambientales del ensayo

Lugar de verificación: Hospital Carlos Andrade Marín – Laboratorio de Biología Molecular

Fecha y hora de la verificación: 09 de agosto del 2016 a las 10:00

To	Tf	Ho	Hf	TA
24.4 °C	25 °C	33.0%	35.9%	23 °C

3. Resultados obtenidos

Analista: Carolina López		Analista: Sofía Vivanco	
Volumen 1: 100 uL		Volumen 2: 100 uL	
CORRIDA	Pesos Medidos	CORRIDA	Pesos Medidos
1	0.0998	1	0.0992
2	0.0991	2	0.0998
3	0.0998	3	0.0997
4	0.0998	4	0.0997
5	0.0995	5	0.0999
6	0.0998	6	0.0999
7	0.0999	7	0.0995
8	0.0992	8	0.0997
9	0.0999	9	0.0997
10	0.0992	10	0.0997
Total	0.996 g	Total	0.9968 g
Peso medio (\bar{W})	0.0996 g	Peso medio (\bar{W})	0.09968 g

Volumen medio (V_t)	0.0999	Volumen medio (V_t)	0.1000
DS (uL)	0.0003	DS (uL)	0.0002
CV%	0.0319	CV%	0.2
% Error (inexactitud)	± 0.1	% Error (inexactitud)	0.0

4. Conclusión

La verificación del instrumento fue realizada en base al protocolo publicado en el 2005 por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) en el libro denominado "MANUAL DE MANTENIMIENTO PARA EQUIPO DE LABORATORIO".

En base al certificado de calibración emitido por la empresa SeCalMet, con número SECM-V-2016-545, el porcentaje de error máximo permitido es de 0.8 uL. Por lo tanto, considerando que los valores obtenidos en la verificación realizada cumplen con dicho parámetro, se concluye que el instrumento es apto para ser utilizado en el estudio. (Organización Panamericana de la Salud, 2005)



ANEXO 7. Verificación Pipeta 5 uL

ENSAYO DE VERIFICACIÓN

1. Datos informativos

Instrumento: Pipeta automática

Marca: HUMAN

Número de serie: XM4C07573

Rango: 5 uL

Material: Acero inoxidable

2. Condiciones ambientales del ensayo

Lugar de verificación: Pontificia Universidad Católica del Ecuador – Laboratorio de Biología Molecular DiserLab

Fecha y hora de la verificación: 14 de septiembre del 2016 a las 11:00

To	Tf	Ho	Hf	TA
24.4°C	25 °C	35.9%	36.7%	23°C

3. Patrones y equipos utilizados

Patrones:

Agua destilada tipo 3, según especificación norma ISO 3696

Balanza:

BOECO; modelo: BAS 31 PLUS; serie: 432793/14; Id: 2127425; Certificado No. SECM-B-2016-092

4. Resultados obtenidos

Analista: Carolina López		Analista: Sofía Vivanco	
Volumen 1: 5 uL		Volumen 2: 5 uL	
CORRIDA	Pesos Medidos	CORRIDA	Pesos Medidos
1	0,0050	1	0,0051
2	0,0048	2	0,0050
3	0,0052	3	0,0049
4	0,0049	4	0,0050
5	0,0051	5	0,0049
6	0,0050	6	0,0051
7	0,0051	7	0,0049

8	0,0051	8	0,0050
9	0,0049	9	0,0051
10	0,0048	10	0,0050
Total	0.0499 g	Total	0.0500 g
Peso medio (\bar{W})	0.0050 g	Peso medio (\bar{W})	0.0050 g
Volumen medio (V_t)	0.0050	Volumen medio (V_t)	0.0050
DS (uL)	0.0001	DS (uL)	0.0001
CV%	2.7461	CV%	1.6330
% Error (inexactitud)	0.1293	% Error (inexactitud)	0.3300

5. Conclusión

La verificación del instrumento fue realizada en base al protocolo publicado EN EL 2005 por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) en el libro denominado "MANUAL DE MANTENIMIENTO PARA EQUIPO DE LABORATORIO". (Organización Panamericana de la Salud, 2005)



ANEXO 8. Calificación Equipo Sysmex XT 1088i



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE MEDICINA

CARRERA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

Calificación del equipo hematológico a emplearse durante la ejecución del proyecto titulado: Estudio piloto para establecer la utilidad del Tripolifosfato de sodio (TPF) como anticoagulante de elección en la realización de pruebas hematológicas en un laboratorio de la ciudad de Quito, septiembre a noviembre del 2016.

1. Información general del equipo

IDENTIFICACIÓN	
Fabricante	Roche
Modelo	Sysmex XT-1800i
Número de serie	70891
Condición de Instalación	Operativo
Medidas	530 x 630 x 720 mm
Fecha de instalación	No disponible
Lugar de Instalación	Laboratorio Central del HCAM
Contacto de Servicio	1800 110 110
Fecha de última calibración	18-08-2016


Responsable de la calificación


Jefa de área de Hematología


Responsable de la calificación

Fecha: 22 de agosto del 2016



2. Calificación de Instalación

Especificaciones de Instalación	¿Cumple?	
	Si	No
Dimensiones del equipo: 530 x 630 x 720 mm (An x Al x P)	X	
El aparato debe estar ubicado en un lugar no expuesto a salpicaduras de agua.	X	
Toma corriente de 3 clavijas próxima al equipo	X	
Alimentación eléctrica de 100-240 V AC/ 220-240 V AC \pm 10%	X	
Consumo de energía 250 VA	X	
Conexión a tierra	X	
Regulador de voltaje (UPS)	X	
Temperatura del entorno 15-30 °C (23 °C)	X	
Humedad Relativa de entre 45-85 %	X	
El equipo debe estar en un lugar donde no esté expuesto a la luz directa del sol	X	
Cerca del lugar de ubicación no deben encontrarse equipos que produzcan interferencias eléctricas, como aparatos de radio, centrífugas, etc.	X	
El equipo debe estar sobre una superficie nivelada, firme y libre de vibraciones	X	
Deben existir 50 cm de distancia entre las paredes y los paneles laterales, posterior y superior	X	


 Responsable de la calificación


 Jefa de área de Hematología



 Responsable de la calificación

Fecha: 22 de agosto del 2016

3. Calificación de Operación

Especificaciones de Operación		¿Cumple?	
		Si	No
Alarmas	Error del equipo	X	
	Se detiene al presionar F4	X	
	Error en escaneo de código de barras	X	
	Cuando se produce un error, suena un aviso acústico y aparece el cuadro de diálogo de ayuda.	X	
Estado de la unidad principal	Modo de análisis	X	
	Perfil de parámetros	X	
	Gráficas L-V	X	
	Estado de conexión al computador central	X	
	Visualización de gráficos	X	
	Listo: color verde	X	
	Análisis en curso: color naranja	X	
	Error/avería: color rojo	X	
Análisis aleatorio simultáneo	Después de la última determinación, el equipo regresa a un estado de standby	X	
	21 parámetros evaluados	X	
Volumen de muestra necesario	Aproximadamente 85 uL para modo manual	X	
Control de Temperatura	Cámara de reacción: 41°C aprox.	X	
	Calefactor para reactivos: 45°C aprox.	X	
Tiempo en alcanzar temperatura establecida	≤ 3 minutos	X	
Comprobación de ruido de fondo	Los valores de fondo son iguales o menores a los establecidos	X	
Control de Calidad	Valores de controles dentro del rango establecido	X	
	Límite como múltiplo de SD: 2SD	X	
Mantenimiento Diario	Enjuagado automático de la cámara de detección	X	
	Se realiza autolimpieza	X	
	Al finalizar el procesamiento, se realiza SHUTDOWN	X	
Mantenimiento Mensual	Limpieza de bandejas izquierda y derecha de racks	X	
	Limpieza del carro muestreador	X	
Análisis de muestra	Modo manual, capilar y automático	X	
Rendimiento	El equipo procesa aprox. 80 muestras/hora	X	
Cierre del sistema	Al cerrar el sistema se limpia el detector y	X	

	la línea de dilución.		
--	-----------------------	--	--


Responsable de la calificación

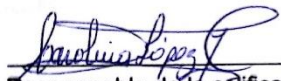

Jefa de área de Hematología


Responsable de la calificación

Fecha: 22 de agosto del 2016

4. Calificación de Desempeño

Especificaciones de Desempeño	¿Cumple?	
	Si	No
Precisión Glóbulos Rojos: $\leq 1,5\%$	X	
Precisión Glóbulos Blancos: $\leq 3,0\%$	X	
Precisión Hemoglobina: $\leq 1,5\%$	X	
Precisión Hematocrito: $\leq 1,5\%$	X	
Precisión Plaquetas: $\leq 4,0\%$	X	


Responsable de la calificación


Jefa de área de Hematología


Responsable de la calificación

Fecha: 22 de agosto del 2016

ANEXO 9. Calibración Equipo Sysmex XT 1800i



SYSMEX AMERICA, INC
 Calibration/Verification of Manufacturer Specifications
 Certificate For: XT-Series

Customer Copy

Account: IESS HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARIN

FSR: Cesar Diaz

Model: XT-1800

Cycle Ctr: 36273

S/N: 70891

DATE	18-ago-15
RID #	
Software Version (IPU)	

Reagents

Reagent	Lot#	Exp.
EPK	N/A	N/A
FBA	N/A	N/A
FFD	N/A	N/A
FFS	N/A	N/A
SLS	N/A	N/A
RED	N/A	N/A

Background Counts

	Counts		Counts
WBC < 1 x 10 ³ /uL	0.02	PLT < 10 x 10 ³ /uL	1
DIFF < 2 x 10 ³ /uL	0.00	PLT-D < 10 x 10 ³ /uL	0
RBC < 0.02 x 10 ⁶ /uL	0.00	RBC clog voltage	101
HGB < 0.1 g/dl	0.0	HGB Blank	2189

Lotus Particles, Calibrators, and QC Products

	Lot #	Exp. Date
FSC 4207A	N/A	N/A
SFL C27806	N/A	N/A
CELLPACK for dilution	N/A	N/A
X-Cal	N/A	N/A

Sensitivity Adjustments

FSC Laser Alignment Check

	FSC (X)	FSC (W)
Mean	#DIV/0!	#DIV/0!
Target	130 +/- 50	< 0.18

SFL/SSC Laser Alignment Check

	SFL (X)	SFL (W)	SSC (X)	SSC (W)
Mean	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
Target	130.0 +/- 50	< 0.41	> 30	< 0.41

X-CAL

	BASO-X	BASO-Y	DIFF-X	DIFF-Y	RBC-X	RBC-Y	MPV	MCV
Mean	116.6	136.2	160.4	59.4	N/A	N/A	9.6	80.4
Lower Limit	114.6	135.6	157.9	55.8	N/A	N/A	9.1	78.2
Upper Limit	120.6	141.2	164.1	65.4	N/A	N/A	9.9	82.2

Precision

Precision Open Mode

	WBC	RBC	HGB	HCT	MCV	PLT	RDW-SD	RDW-CV	MPV	PLT-O
CV %:	2.8	0.7	0.3	0.5	0.3	1.5	0.4	0.3	0.8	N/A
Limits	3.0%	1.0%	1.0%	1.0%	1.0%	4.0%	3.0%	3.0%	4.0%	6.0%

	NEUT#	LYMPH#	MONO#	EO#	BASO#	NEUT%	LYMPH%	MONO%	EO%	BASO%
CV %:	2.7	3.7	9.2	9.6	3.9	1.6	3.0	7.2	9.4	1.2
Limits	8.0%	8.0%	20.0%	25.0%	40.0%	8.0%	8.0%	20.0%	25.0%	40.0%

	RET%	RET#	IRF	RET-Ha	IG #	IG %
CV %:	N/A	N/A	N/A	N/A	#DIV/0!	#DIV/0!
Limits	15.0%	15.0%	30.0%	5.0%	25.0%	25.0%

Precision Closed Mode

	WBC	RBC	HGB	HCT	MCV	PLT	RDW-SD	RDW-CV	MPV	PLT-O
CV %:	1.4	0.5	0.3	0.5	0.0	2.1	0.5	0.3	0.4	N/A
Limits	3.0%	1.0%	1.0%	1.0%	1.0%	4.0%	3.0%	3.0%	4.0%	6.0%

	NEUT#	LYMPH#	MONO#	EO#	BASO#	NEUT%	LYMPH%	MONO%	EO%	BASO%
CV %:	2.4	2.3	4.0	6.5	3.0	1.4	2.0	3.3	7.3	1.6
Limits	8.0%	8.0%	20.0%	25.0%	40.0%	8.0%	8.0%	20.0%	25.0%	40.0%

	RET%	RET#	IRF	RET-Ha	IG #	IG %
CV %:	N/A	N/A	N/A	N/A	#DIV/0!	#DIV/0!
Limits	15.0%	15.0%	30.0%	5.0%	25.0%	25.0%

Calibration

Open Mode Calibration

	WBC	RBC	HGB	HCT	MCV	PLT	WBC(DIFF) per cell	RBC-O	PLT-O
Mean	7.82	4.43	12.2	35.6	80.4	235	708	N/A	N/A
Lower Limit	7.83	4.35	11.9	34.8	78.2	227	689	4.21	205
Upper Limit	8.23	4.83	12.5	36.8	82.2	249	748	4.55	239

Mode to Mode Calibration

	WBC	RBC	HGB	HCT	MCV	PLT	PLT-O	RET #	RBC-O	WBC(DIFF)
Open	7.82	4.43	12.2	35.6	80.4	235	N/A	N/A	N/A	708
Closed	7.77	4.46	12.2	35.9	80.5	233	N/A	N/A	N/A	732
Diff (%)	0.6	-0.7	-0.3	-0.9	-0.2	1.0	N/A	N/A	N/A	-3.4
Limits	2.5%	1.0%	1.0%	1.0%	2.0%	3.0%	3.5%	20%	3.0%	6.0%

CAPILLARY MODE

***PERFORMED AS NEEDED

	WBC	RBC	HGB	HCT	MCV	PLT	PLT-D	RBC-D	RET #
Open	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	N/A	N/A	N/A
CAPILLARY	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	N/A	N/A	N/A
Differential (%)	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	N/A	N/A	Verification
Limits	7.0%	5.0%	5.0%	5.0%	5.0%	12.0%	12.0%	7.0%	Only


COMMENTS:

Calibration performed by:

Cesar Diaz

Date: 18-ago-16

Calibration accepted by:

Leda Ana Andrade 

Date: 18-08/16



ANEXO 10. Controles utilizados en el periodo comprendido entre Septiembre y Noviembre del 2016.



Insight™
INTER-LABORATORY QUALITY ASSESSMENT PROGRAM
2016 DATA DUE CALENDAR
e-CHECK® (XE)

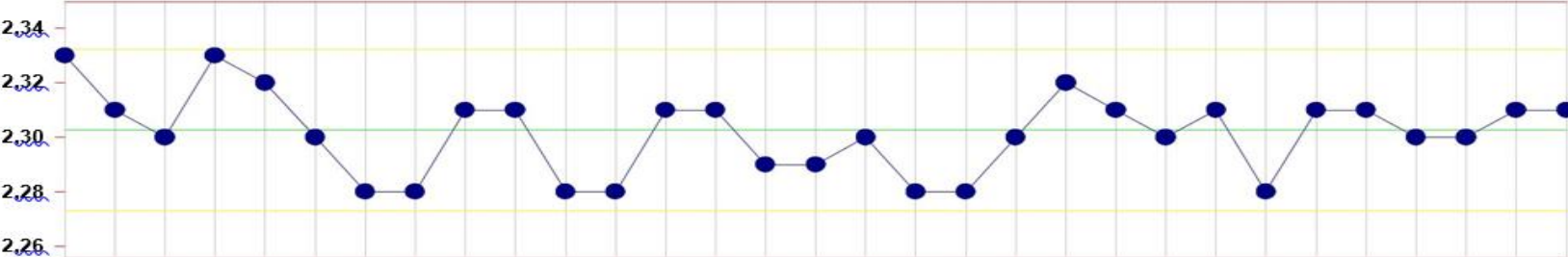
*Note: To generate an Inter-laboratory Quality Assessment Program report for your analyzer, your data must be uploaded to the Sysmex Web Site by the **Period Last Date to Submit** date listed below.*

Lot Number	Lot Begins	Lot Ends	Period 1 Begins	Period 1 Ends	Period 1 Last Date to Submit	Period 2 Begins	Period 2 Ends	Period 2 Last Date to Submit
6195	07/13/2016	10/03/2016	07/13/2016	08/22/2016	08/25/2016	08/23/2016	10/03/2016	10/06/2016
6196								
6197								
6198								
6251	09/07/2016	11/28/2016	09/07/2016	10/17/2016	10/20/2016	10/18/2016	11/28/2016	12/01/2016
6252								
6253								
6254								
6307	11/02/2016	01/23/2017	11/02/2016	12/12/2016	12/15/2016	12/13/2016	01/23/2017	01/26/2017
6308								
6309								
6310								
6363	12/28/2016	03/20/2017	12/28/2016	02/06/2017	02/09/2017	02/07/2017	03/20/2017	03/23/2017
6364								
6365								
6366								

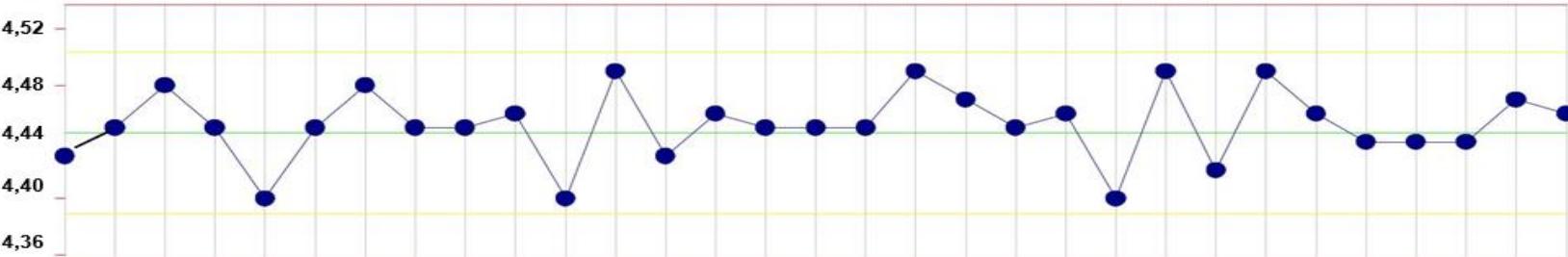
ANEXO 11. GRÁFICOS DE CONTROLES DE CALIDAD INTERNOS

RBC

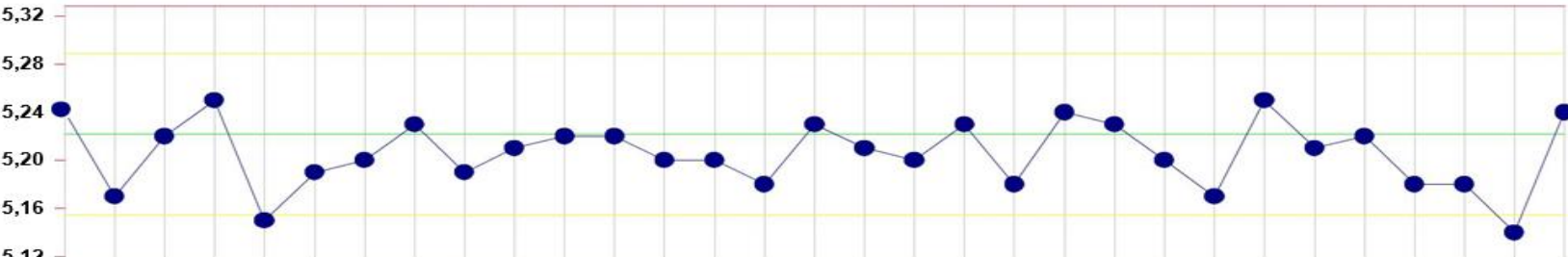
e-CHECK L1 (63100810)



e-CHECK L2 (63100811)



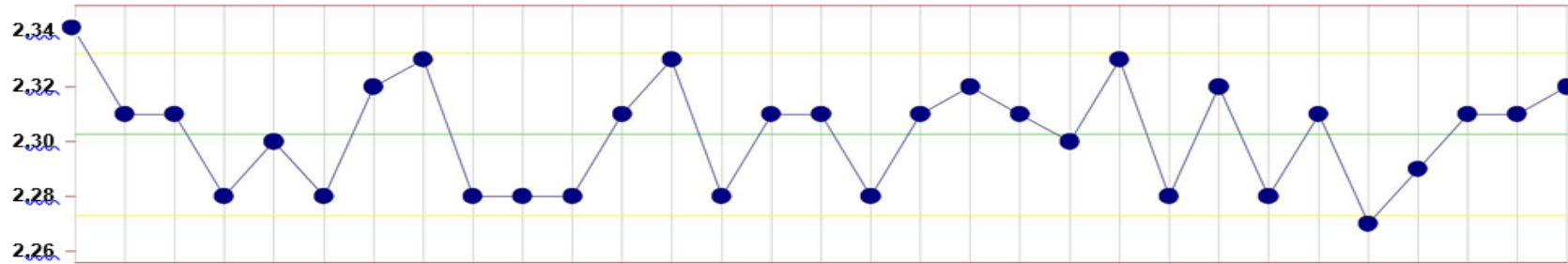
e-CHECK L3 (63100812)



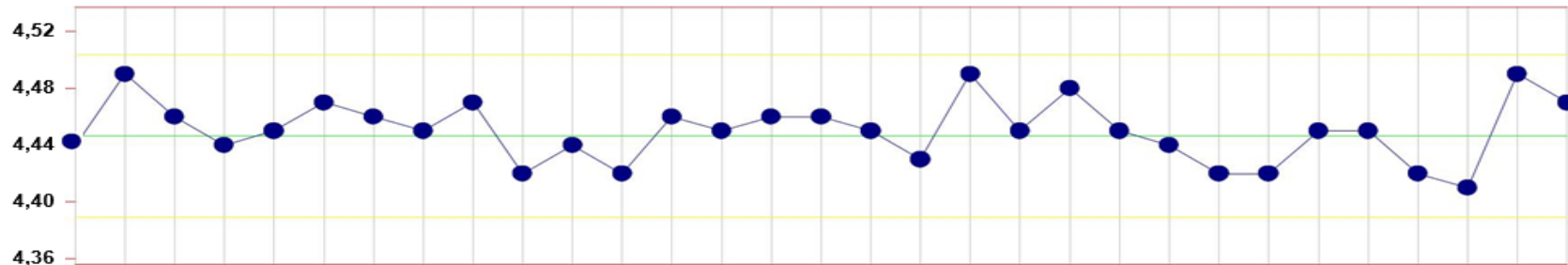
Sep 16

Oct

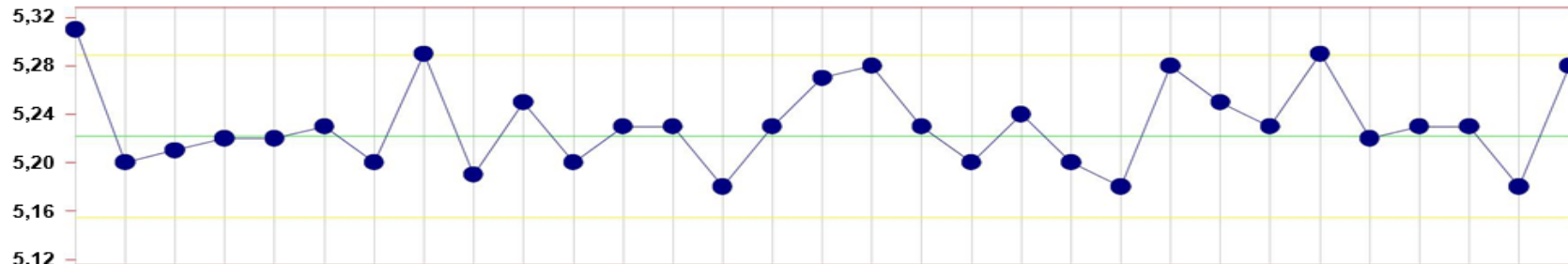
e-CHECK L1 (63100810)



e-CHECK L2 (63100811)



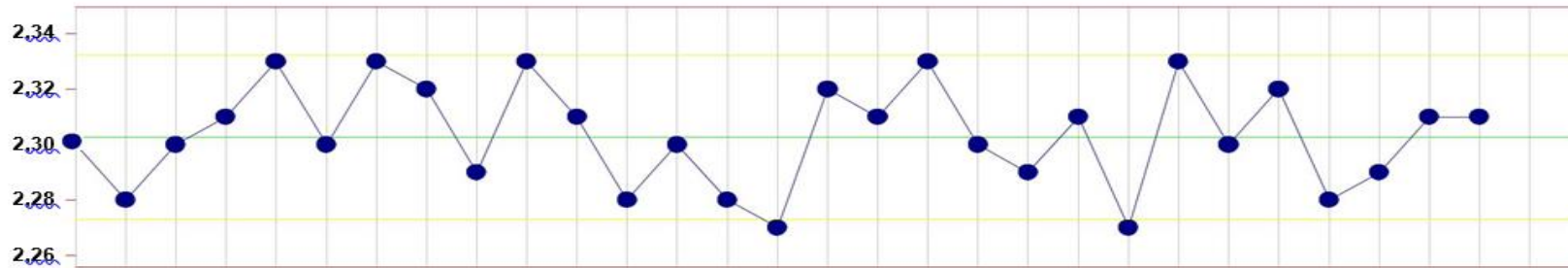
e-CHECK L3 (63100812)



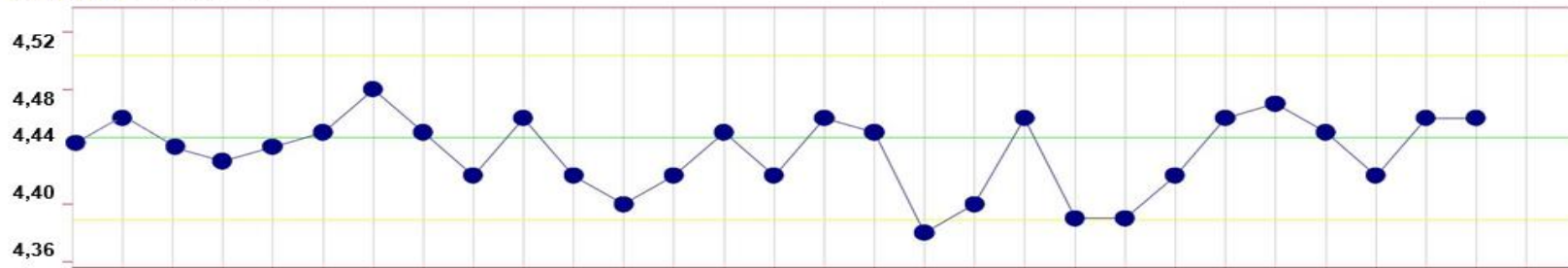
Oct
16

Nov

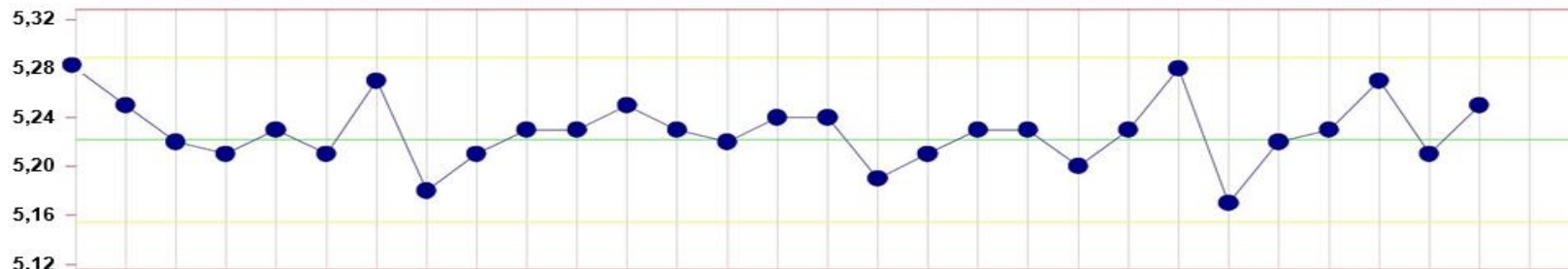
e-CHECK L1 (63100810)



e-CHECK L2 (63100811)



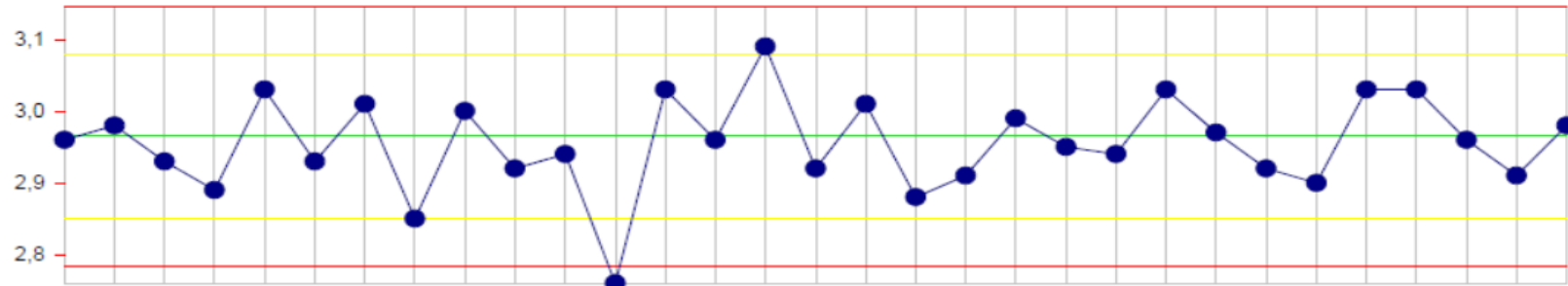
e-CHECK L3 (63100812)



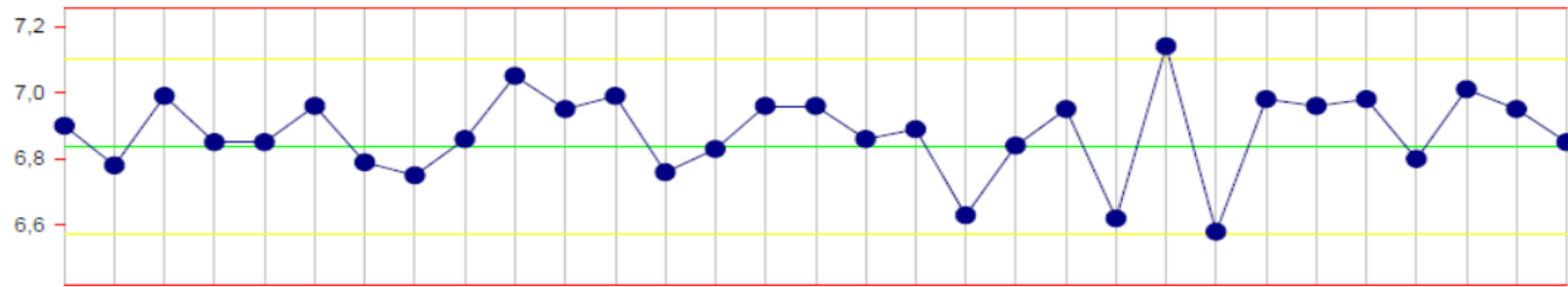
2
Nov
16

WBC

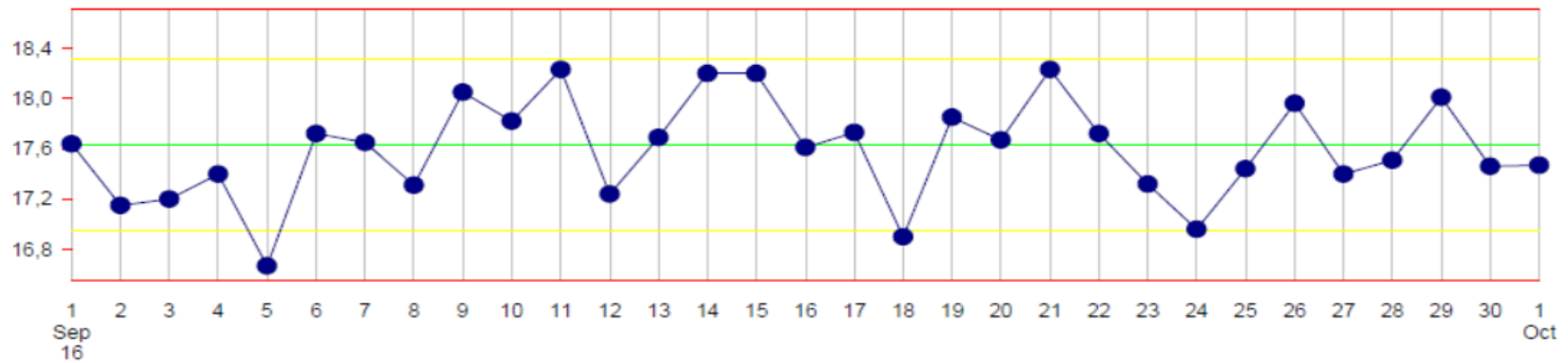
e-CHECK L1 (63100810)



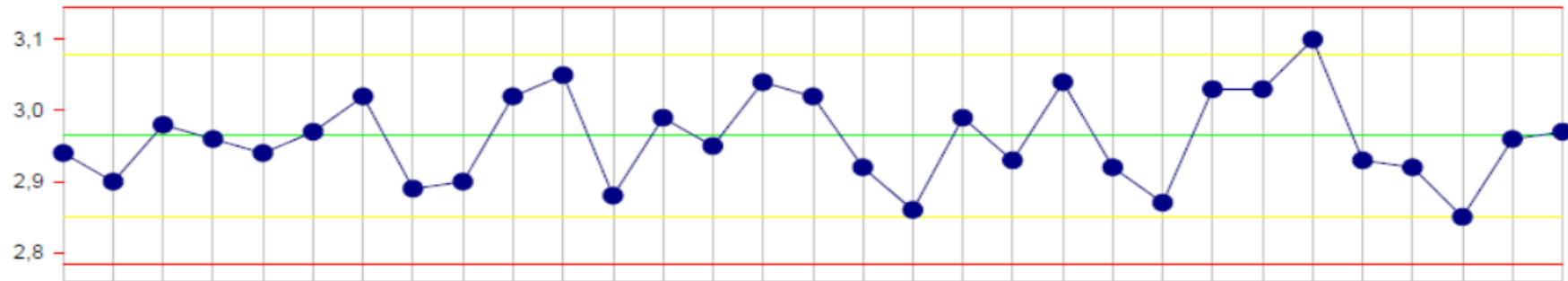
e-CHECK L2 (63100811)



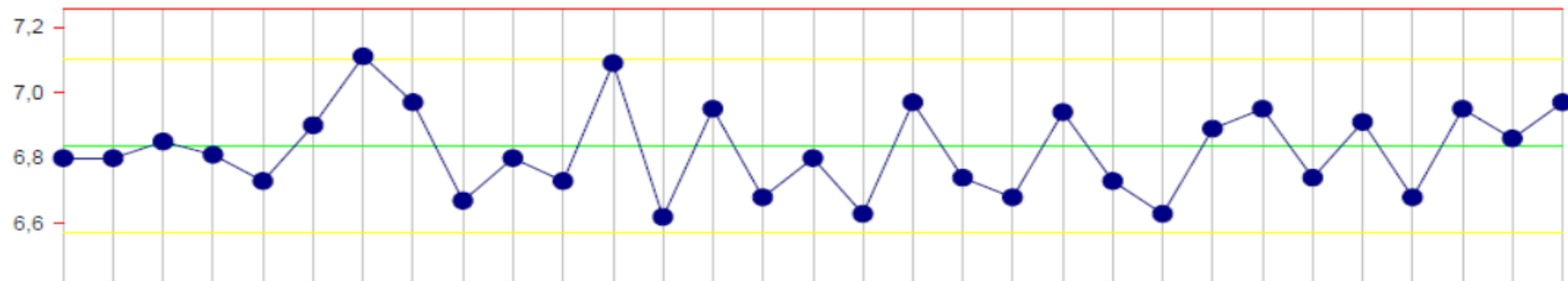
e-CHECK L3 (63100812)



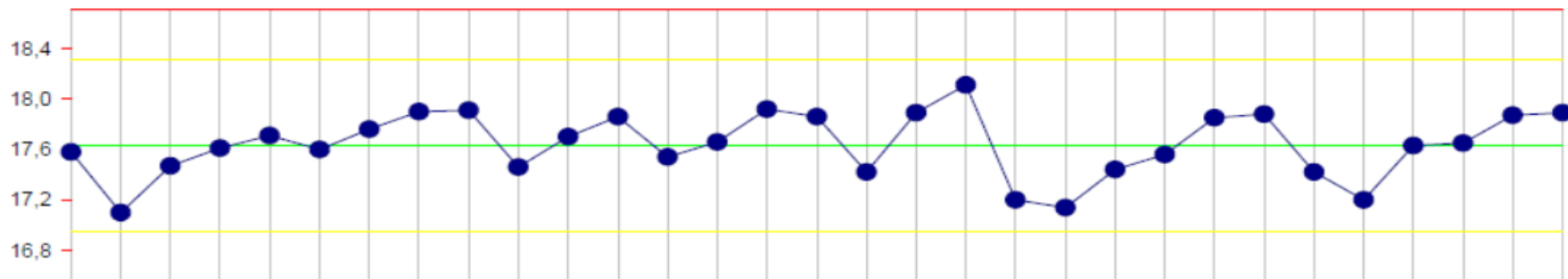
e-CHECK L1 (63100810)



e-CHECK L2 (63100811)



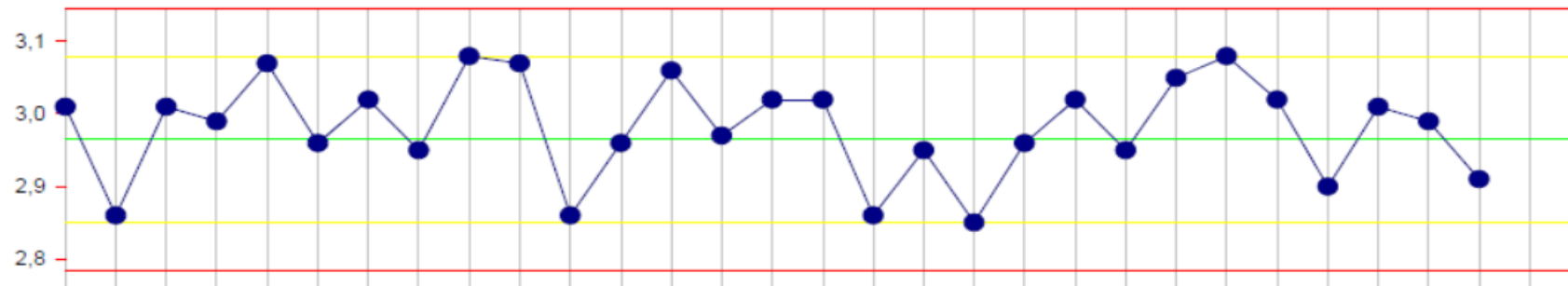
e-CHECK L3 (63100812)



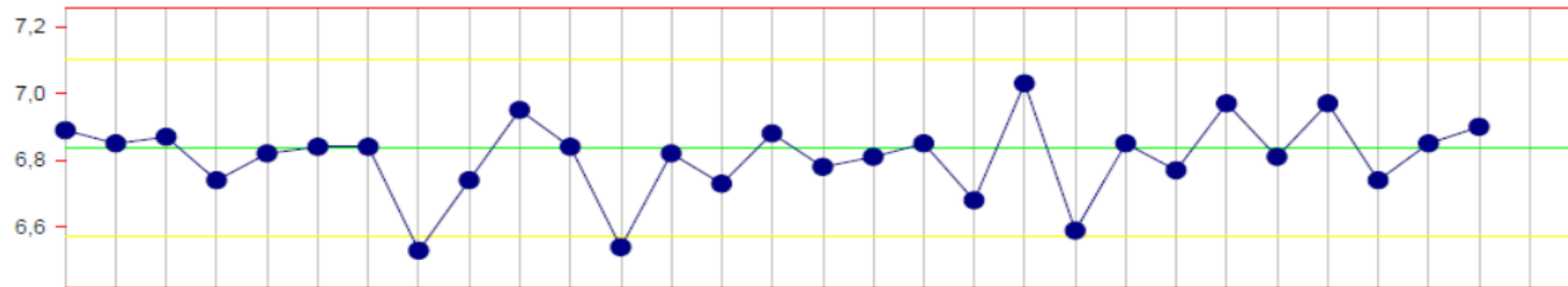
2
Oct
16

1
Nov

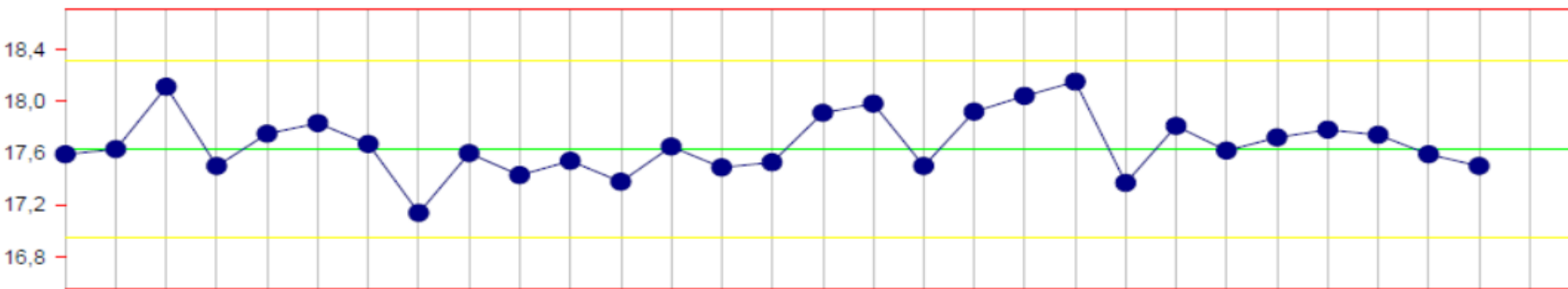
e-CHECK L1 (63100810)



e-CHECK L2 (63100811)

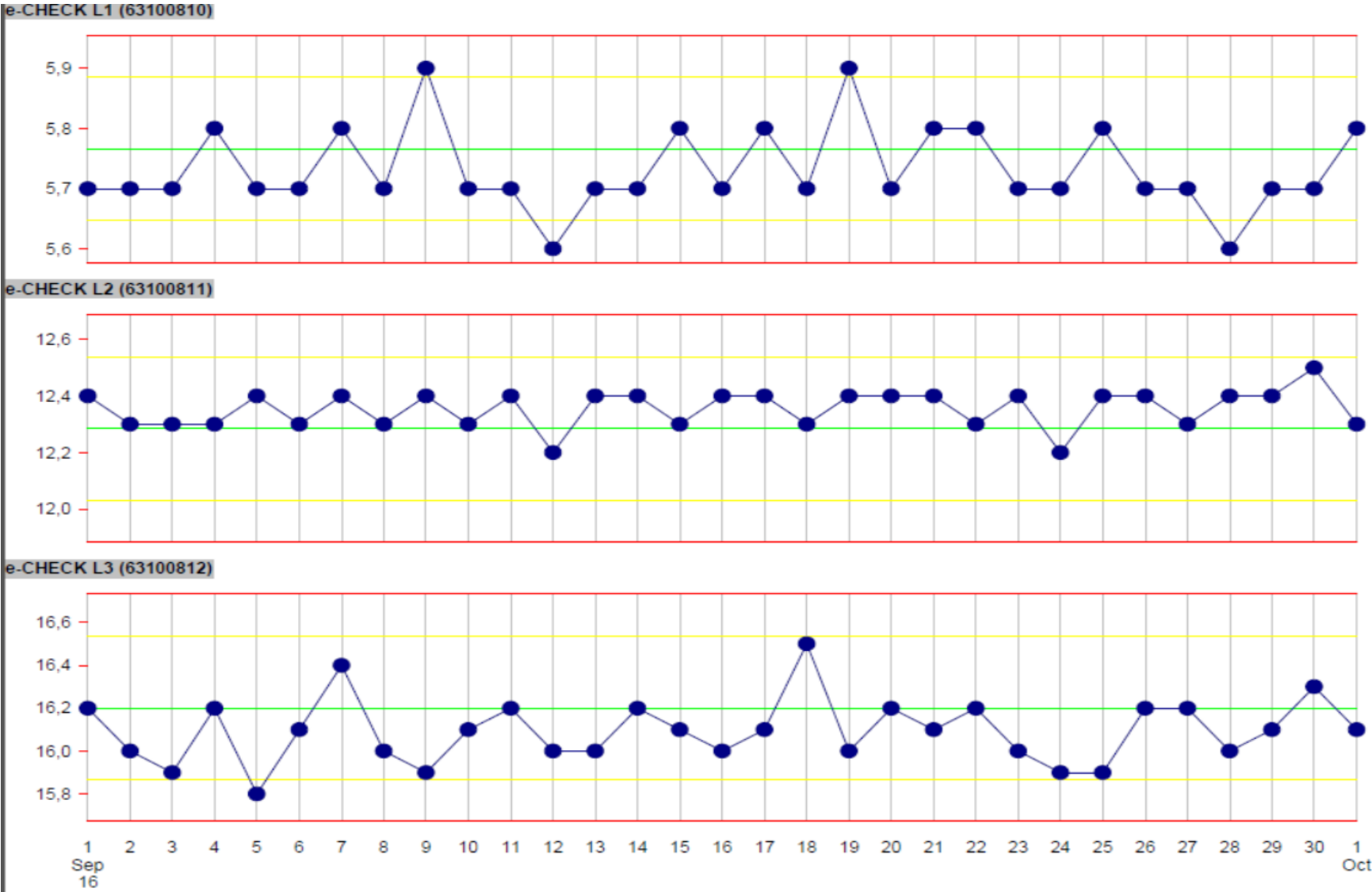


e-CHECK L3 (63100812)

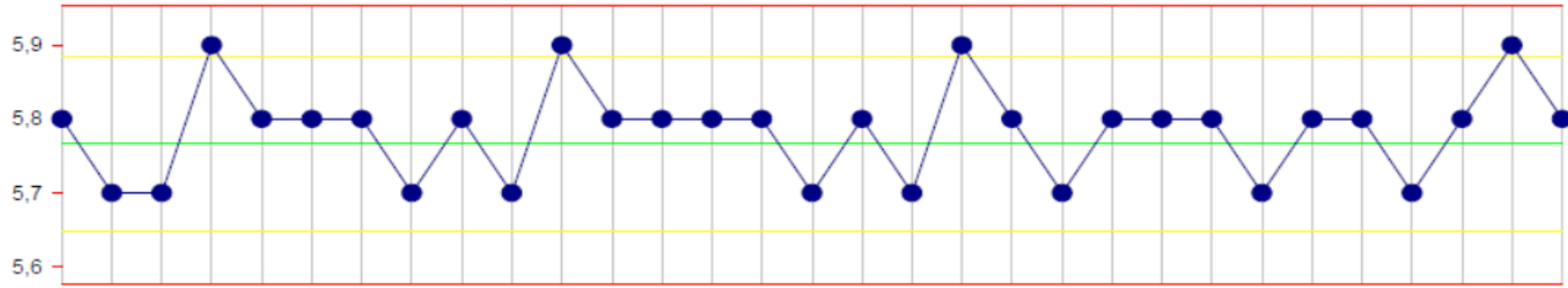


2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30
Nov
16

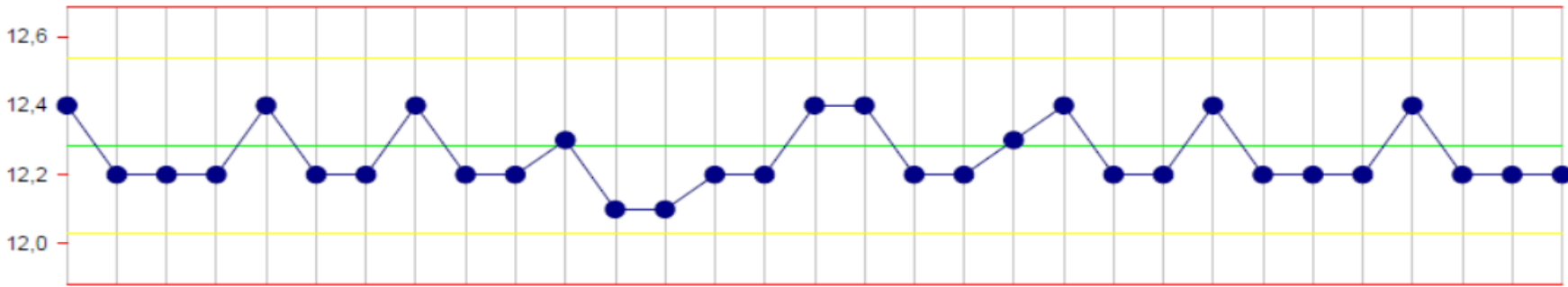
HGB



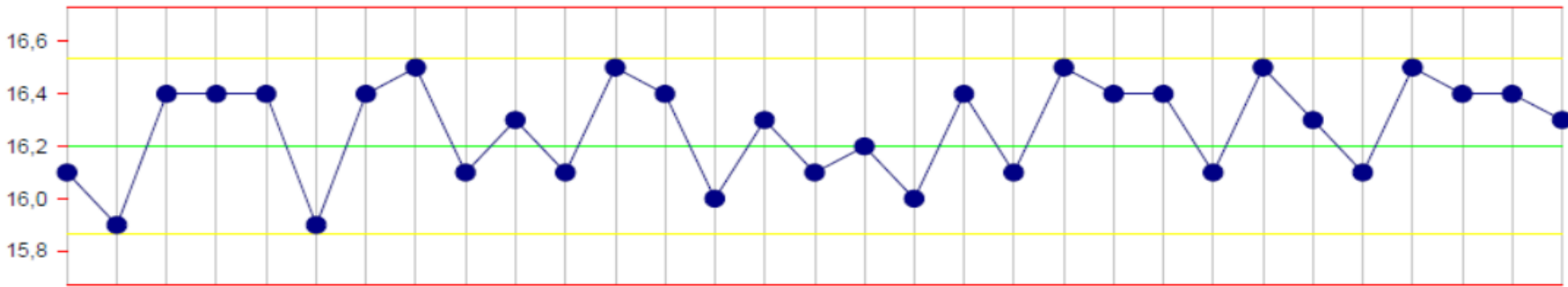
e-CHECK L1 (63100810)



e-CHECK L2 (63100811)



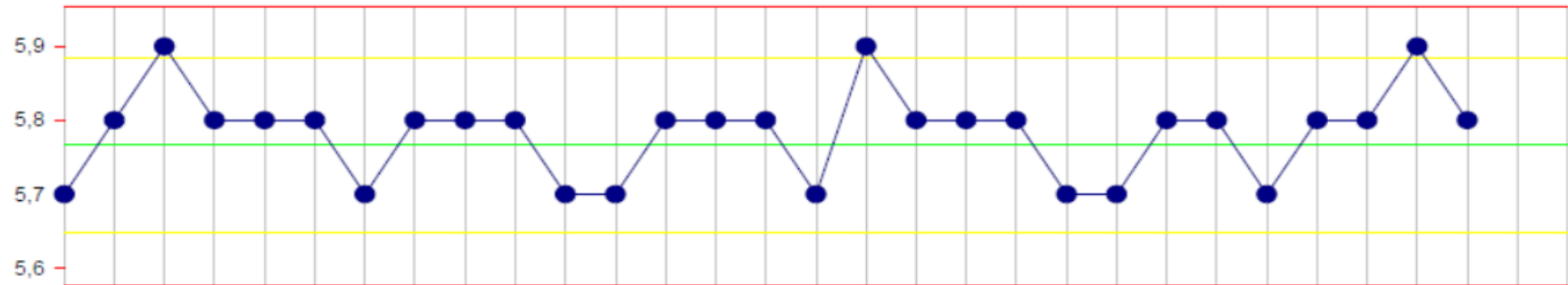
e-CHECK L3 (63100812)



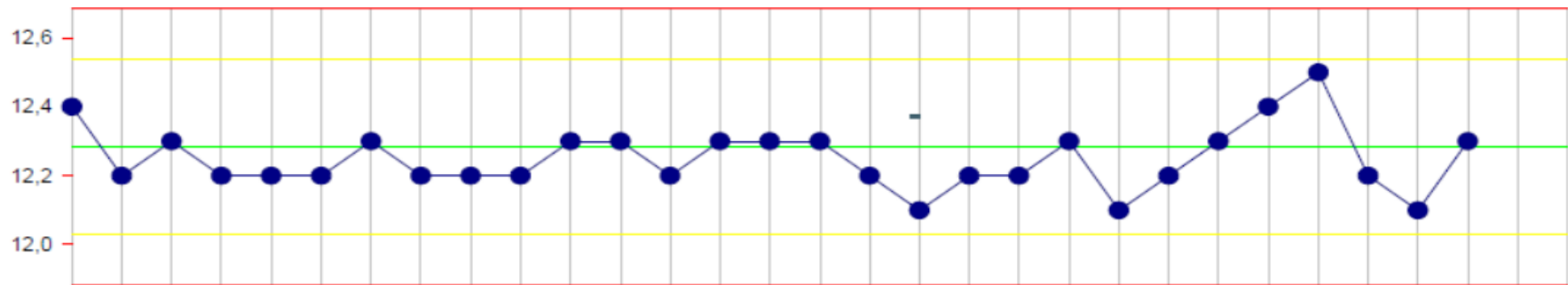
2
Oct
16

1
Nov

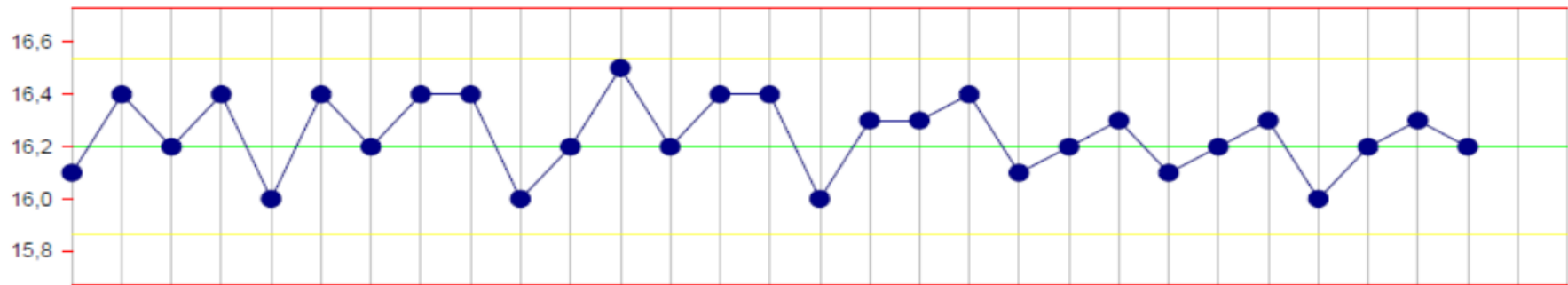
e-CHECK L1 (63100810)



e-CHECK L2 (63100811)



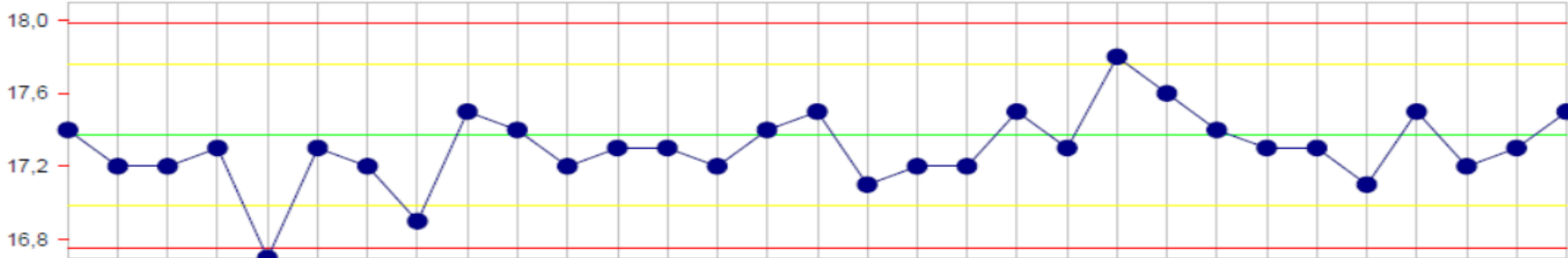
e-CHECK L3 (63100812)



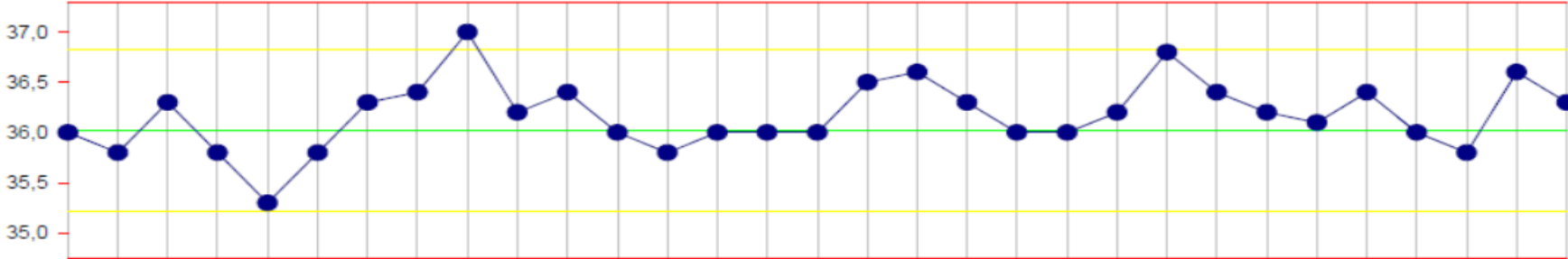
2
Nov
16

HCT

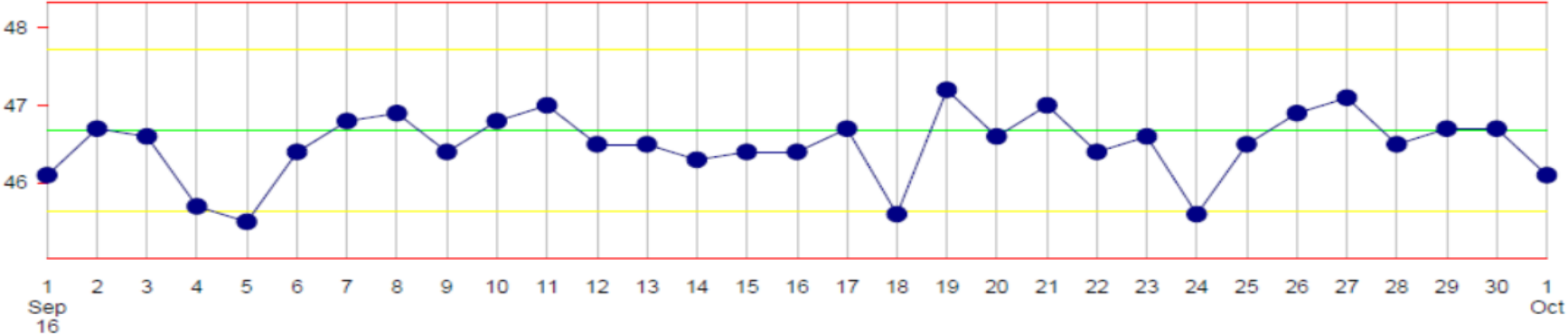
e-CHECK L1 (63100810)



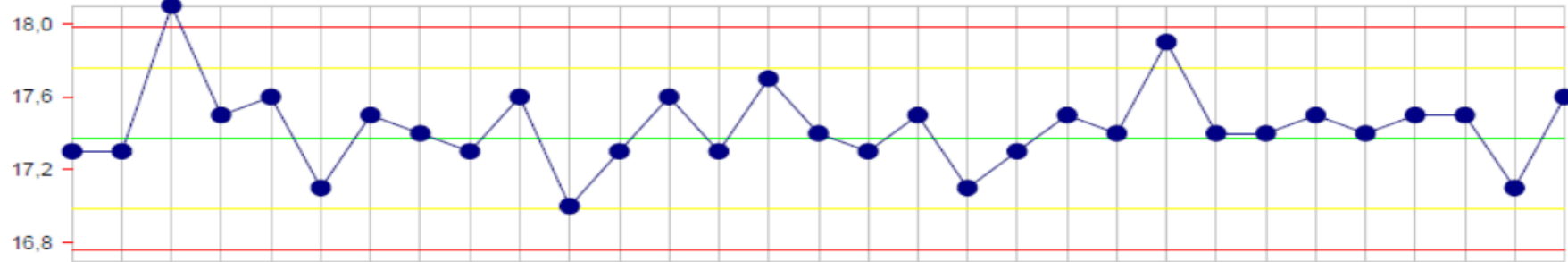
e-CHECK L2 (63100811)



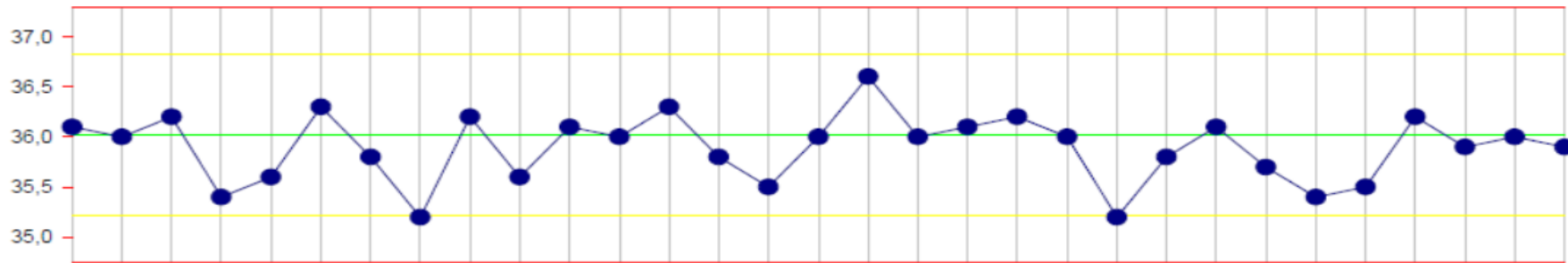
e-CHECK L3 (63100812)



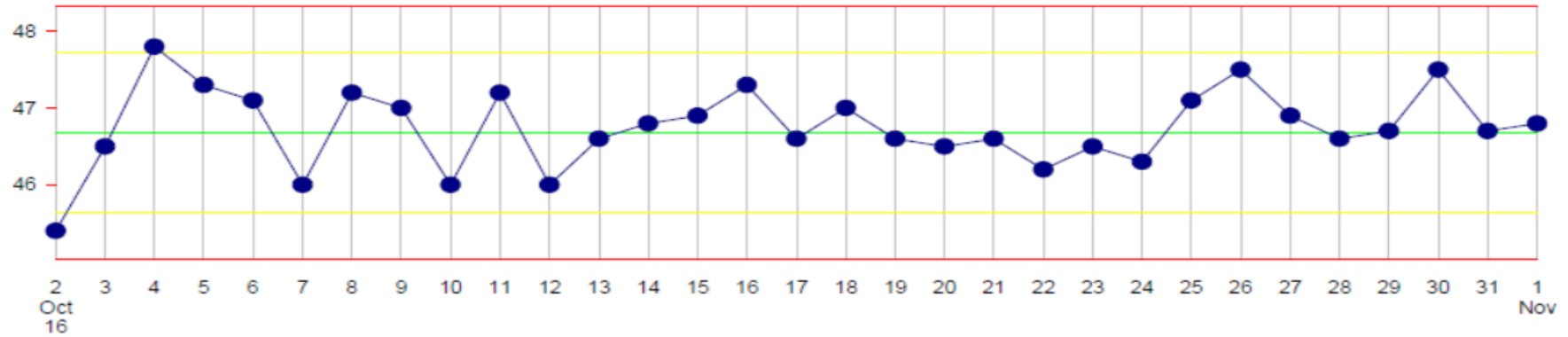
e-CHECK L1 (63100810)



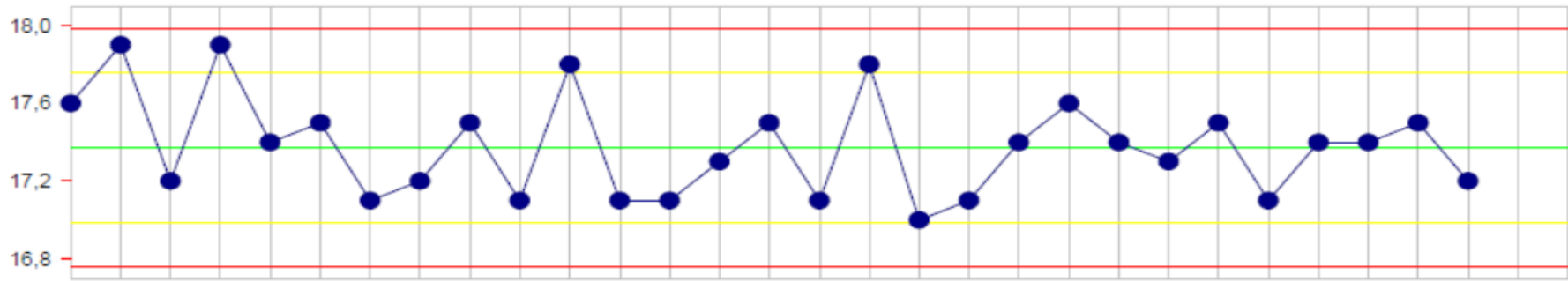
e-CHECK L2 (63100811)



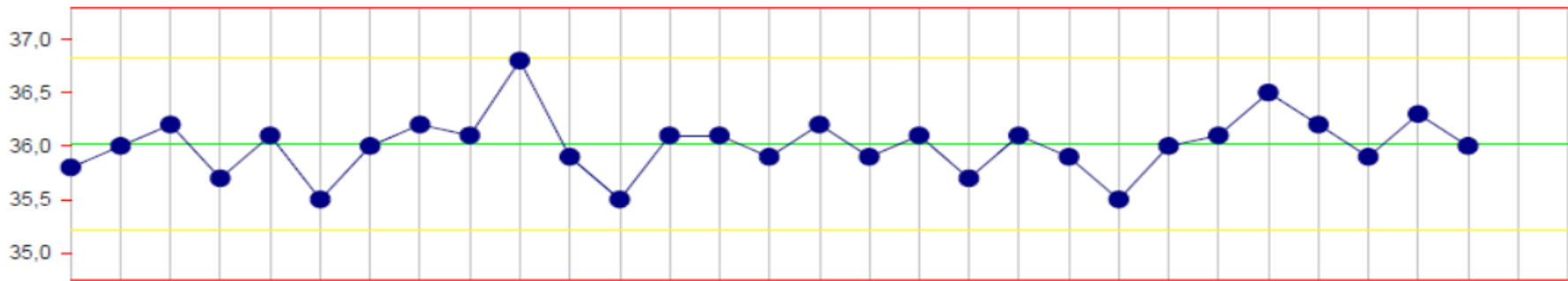
e-CHECK L3 (63100812)



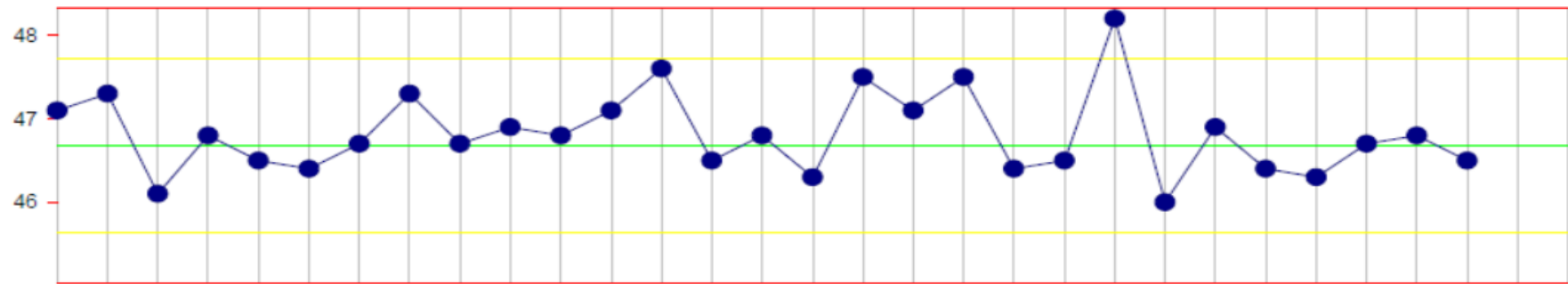
e-CHECK L1 (63100810)



e-CHECK L2 (63100811)



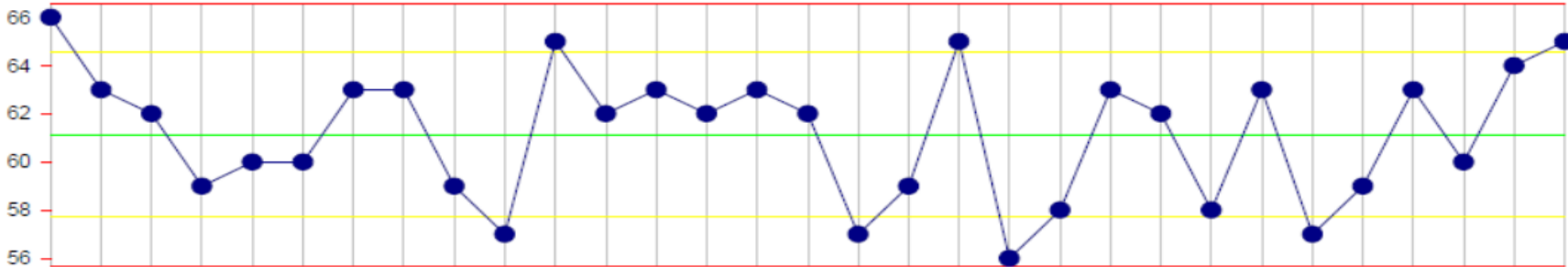
e-CHECK L3 (63100812)



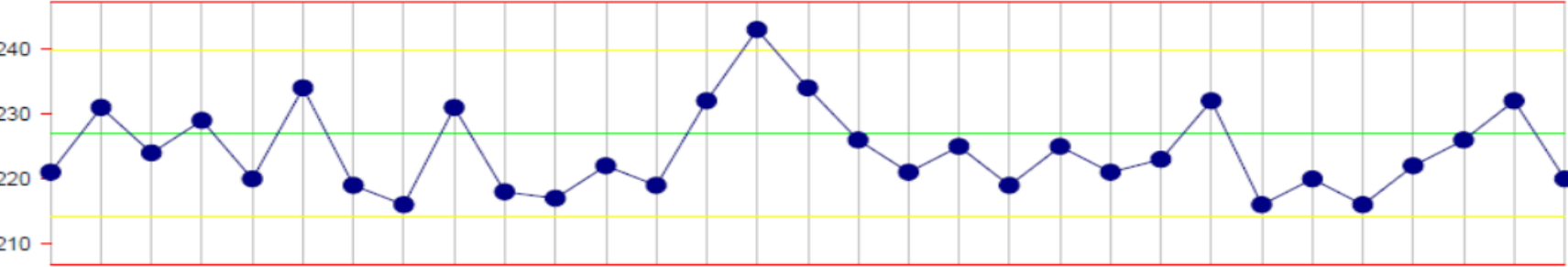
2
Nov
16

PLT

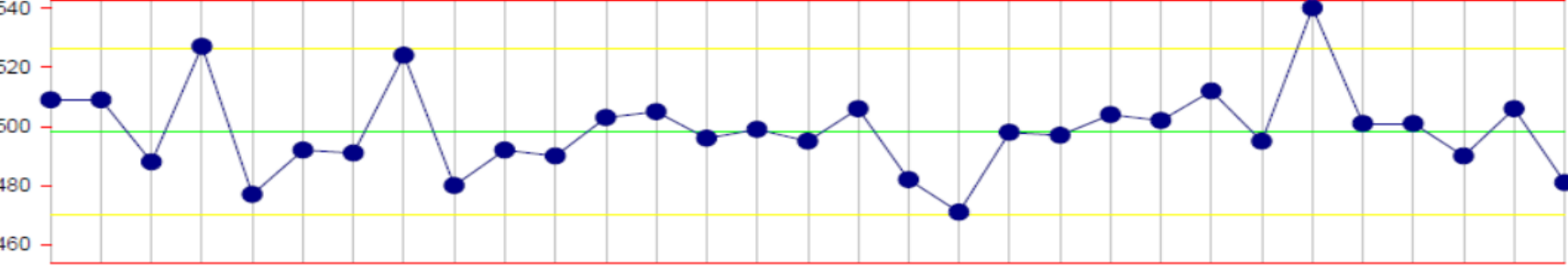
e-CHECK L1 (63100810)



e-CHECK L2 (63100811)

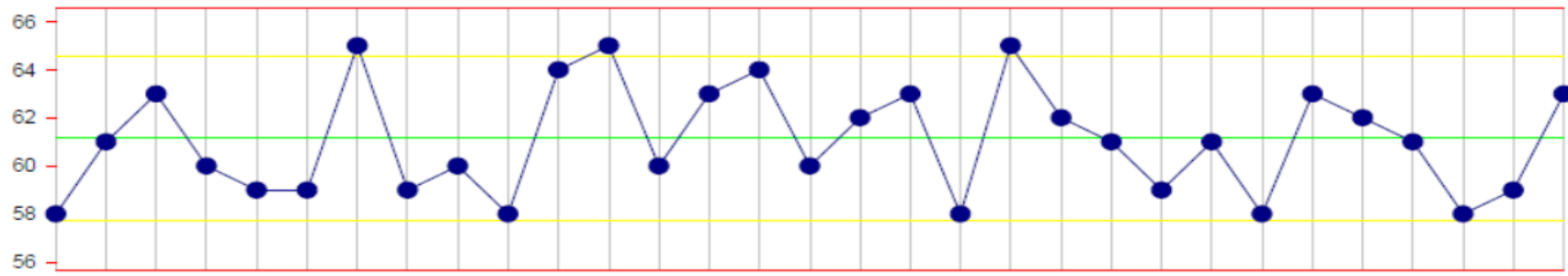


e-CHECK L3 (63100812)

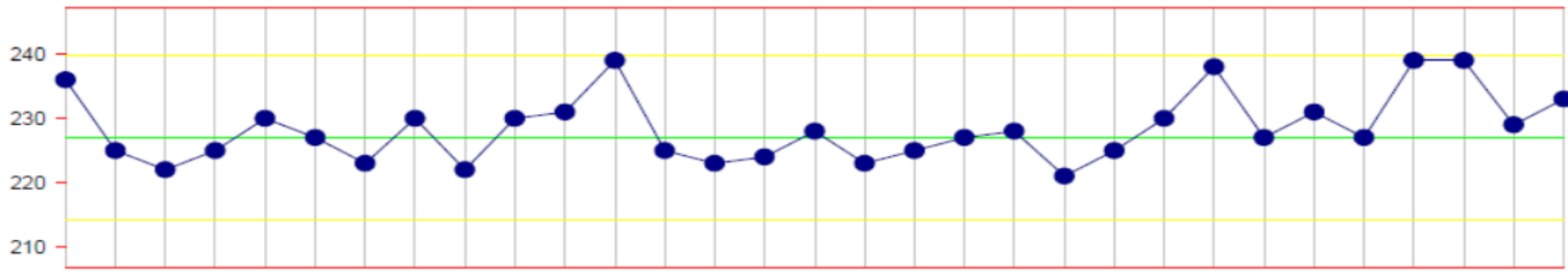


1
Sep
16

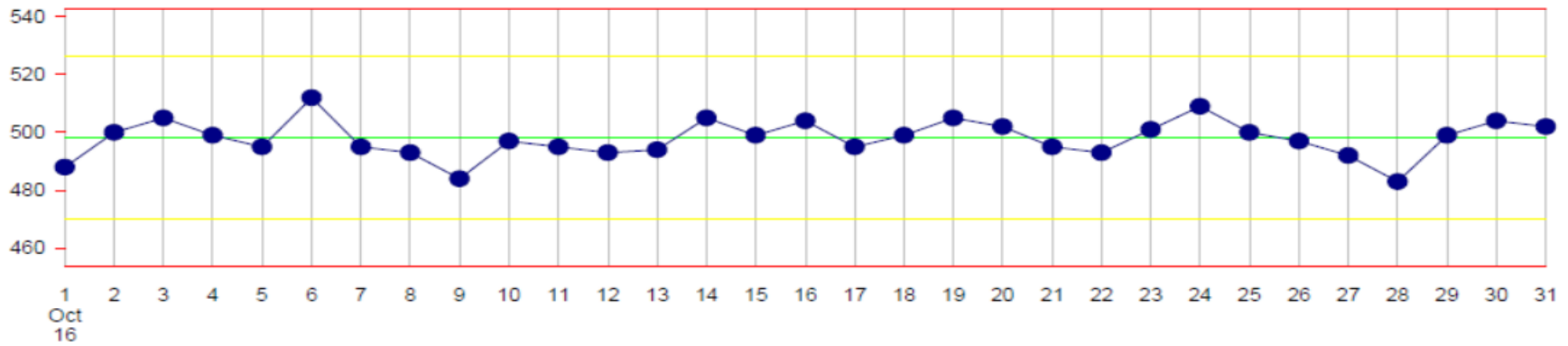
e-CHECK L1 (63100810)



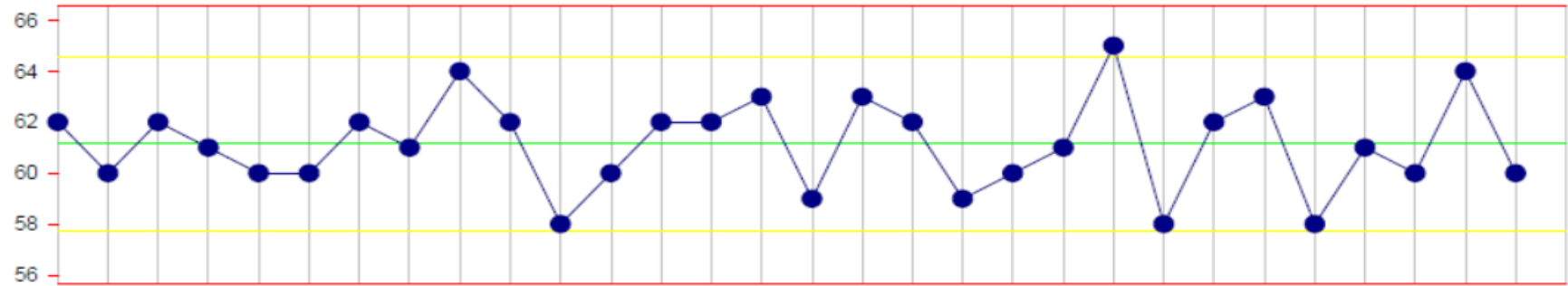
e-CHECK L2 (63100811)



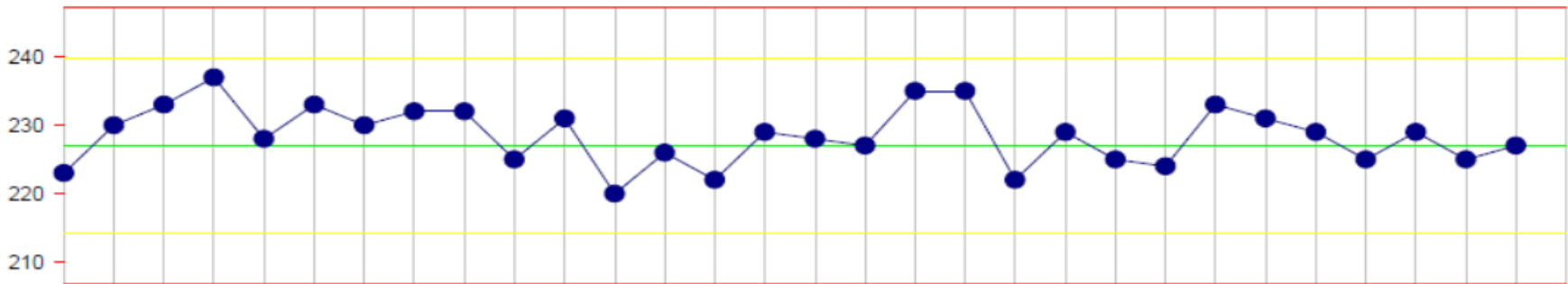
e-CHECK L3 (63100812)



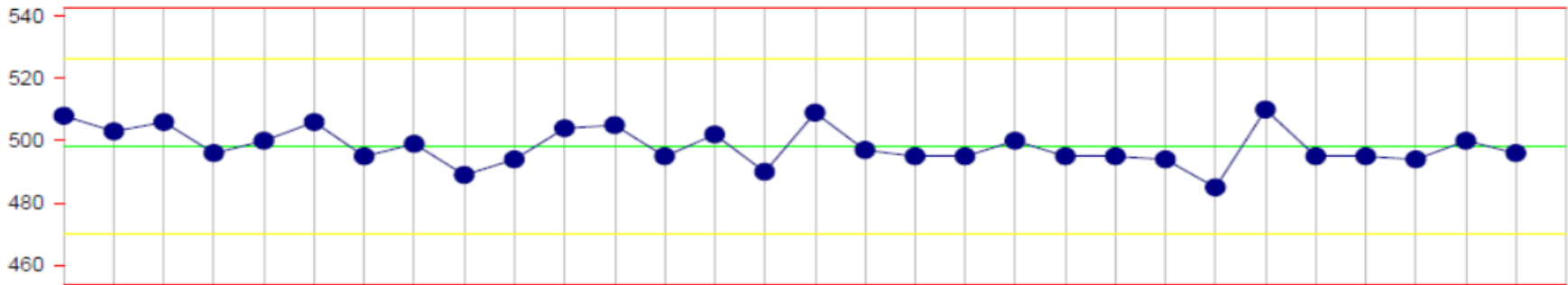
e-CHECK L1 (63100810)



e-CHECK L2 (63100811)



e-CHECK L3 (63100812)



1
Nov
16

Estadísticos obtenidos en el período de septiembre a noviembre del 2016

RBC

Statistics	m (mm3)	C.V. (%)	N
e-CHECK L1	2,303	0,8	91
e-CHECK L2	4,446	0,6	91
e-CHECK L3	5,222	0,6	91

WBC

Statistics	m (mm3)	C.V. (%)	N
e-CHECK L1	2,965	2,2	91
e-CHECK L2	6,839	1,9	91
e-CHECK L3	17,634	1,7	91

HGB

Statistics	m (g/dL)	C.V. (%)	N
e-CHECK L1	5,77	1,2	91
e-CHECK L2	12,29	0,8	91
e-CHECK L3	16,20	1,1	91

HCT

Statistics	m (%)	C.V. (%)	N
e-CHECK L1	17,37	1,3	91
e-CHECK L2	36,03	0,9	91
e-CHECK L3	46,68	1,1	91

PLT

Statistics	m (mm3)	C.V. (%)	N
e-CHECK L1	61,1	3,8	92
e-CHECK L2	227,1	2,5	92
e-CHECK L3	498,3	2,0	92

ANEXO 12. Registro de Temperatura Ambiente

MES: SEPTIEMBRE

MES	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
TEMPERATURA	21°C	23°C	20°C	22°C	25°C	23°C	21°C	24°C	21°C	21°C	22°C	25°C	23°C	20°C	22°C
HORA	6:55	7:00	7:05	6:50	6:55	7:05	7:10	7:00	7:05	6:50	7:15	7:00	6:55	6:55	7:05

MES	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
TEMPERATURA	25°C	25°C	24°C	20°C	23°C	23°C	20°C	20°C	21°C	22°C	24°C	23°C	22°C	21°C	20°C
HORA	7:00	7:05	7:10	6:50	7:00	6:55	7:05	7:10	6:50	6:55	6:50	7:00	7:05	6:50	7:00



 FIRMA DE RESPONSABILIDAD



MES: OCTUBRE

TEMPERATURA AMBIENTE

MES	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
-----	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----	----

TEMPERATURA	23°C	22°C	24°C	24°C	27°C	20°C	21°C	23°C	25°C	25°C	21°C	22°C	25°C	24°C	20°C
HORA	7:00	7:05	7:05	6:55	6:50	7:00	7:00	6:50	7:05	7:10	6:55	6:50	7:00	7:05	7:05

MES	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
-----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

TEMPERATURA	22°C	24°C	21°C	21°C	24°C	23°C	24°C	25°C	25°C	24°C	23°C	22°C	21°C	20°C	24°C	23°C
HORA	6:50	6:55	7:00	7:00	7:10	6:50	7:05	7:05	7:10	6:50	7:00	7:05	6:55	7:10	6:55	7:00


 FIRMA DE RESPONSABILIDAD



MES: NOVIEMBRE

TEMPERATURA AMBIENTE

MES	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
-----	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----	----

TEMPERATURA	25°C	23°C	21°C	22°C	24°C	23°C	25°C	23°C	22°C	20°C	21°C	22°C	24°C	24°C	25°C
HORA	7:10	7:05	6:35	6:50	7:00	7:05	7:05	7:00	6:50	6:50	7:10	7:00	6:55	6:50	6:45

MES	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
-----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

TEMPERATURA	21°C	21°C	20°C	24°C	23°C	21°C	22°C	24°C	23°C	23°C	21°C	24°C	23°C	21°C	20°C
HORA	7:05	7:15	7:00	6:45	6:50	7:10	7:00	6:55	6:50	7:10	7:15	6:55	6:45	7:00	7:10


FIRMA DE RESPONSABILIDAD

ANEXO 13. Registro temperatura refrigeradora

MES: SEPTIEMBRE

MES	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
-----	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----	----

TEMPERATURA	4°C	5.5°C	5.5°C	5.2°C	4.7°C	4.5°C	5.1°C	5.0°C	4.9°C	5.2°C	5.5°C	5.2°C	5.2°C	4.5°C	4.9°C
HORA	6:50	6:55	6:50	7:00	7:00	7:05	6:50	7:00	7:05	7:15	6:55	7:10	7:00	7:00	6:50

MES	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
-----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

TEMPERATURA	5.8°C	5.5°C	5.0°C	5.3°C	5.5°C	5.2°C	5.3°C	4.9°C	4.5°C	4.7°C	4.0°C	4.9°C	5.5°C	5.9°C	5.7°C
HORA	7:10	7:11	7:05	6:55	6:50	6:55	7:00	7:15	6:50	7:00	6:55	7:10	7:05	7:00	7:00


 FIRMA DE RESPONSABILIDAD



MES: OCTUBRE

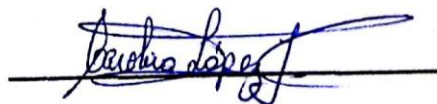
TEMPERATURA REFRIGUERADOR CONTROLES

MES	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
-----	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----	----

TEMPERATURA	4.2°C	5.2°C	4.9°C	3.5°C	3.8°C	4.5°C	5.7°C	4.5°C	4.5°C	4.7°C	4.9°C	4.5°C	4.9°C	4.5°C	5.5°C
HORA	7:00	7:00	6:55	6:50	6:55	7:05	7:15	7:15	6:50	6:55	7:00	7:15	7:00	7:00	7:00

MES	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
-----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

TEMPERATURA	5.2°C	4.9°C	3.8°C	5.7°C	4.8°C	4.5°C	5.1°C	3.7°C	3.7°C	4.0°C	4.5°C	4.2°C	3.8°C	3.8°C	5.5°C	4.9°C
HORA	6:50	6:50	6:50	6:55	6:55	7:00	7:10	7:10	7:00	7:05	7:15	7:00	6:55	7:00	7:00	7:15



FIRMA DE RESPONSABILIDAD

MES: NOVIEMBRE

TEMPERATURA REFRIGUERADOR
CONTROLES

MES	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
-----	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----	----

TEMPERATURA	5.6°C	4.9°C	5.7°C	5.2°C	5.4°C	5.6°C	5.4°C	4.3°C	5.8°C	4.5°C	5.7°C	5.2°C	5.3°C	5.0°C	5.0°C
HORA	7:00	7:00	7:05	6:50	6:55	7:00	7:00	6:55	6:55	7:15	7:15	7:00	6:50	7:00	7:05

MES	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
-----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

TEMPERATURA	4.2°C	5.7°C	5.4°C	4.3°C	4.5°C	4.3°C	4.2°C	5.4°C	5.3°C	5.7°C	5.2°C	3.9°C	5.1°C	3.9°C	4.6°C
HORA	6:50	6:55	7:10	7:00	7:00	7:10	7:10	7:00	6:55	6:50	6:50	7:00	7:05	7:15	7:00



FIRMA DE RESPONSABILIDAD



ANEXO 14. Control de Calidad de tubos.

EDTA					
<u>ESTADÍSTICOS</u>	<u>PARÁMETROS</u>				
	WBC	RBC	HB	HCT	PQ
MEDIA PROMEDIO	8,22	5,65	17,09	49,05	310,36
VARIANZA INTRA CORRIDA (VR)	0,05	0,002	0,020	0,16	44,74
S INTRA CORRIDA	0,22	0,05	0,14	0,40	6,69
S ENTRE CORRIDA	0,23	0,08	0,22	0,80	3,29
VARIANZA ENTRE CORRIDA (VB)	0,05	0,006	0,05	0,64	10,82
COCIENTE VR/VB	0,91	0,34	0,42	0,25	4,14
VARIANZA TOTAL	0,09	0,01	0,07	0,78	51,08
S DEL LABORATORIO	0,31	0,09	0,26	0,88	7,15
CV DEL LABORATORIO	3,72	1,61	1,49	1,80	2,30

CITRATO DE SODIO					
<u>ESTADÍSTICOS</u>	<u>PARÁMETROS</u>				
	WBC	RBC	HB	HCT	PQ
MEDIA PROMEDIO	6,40	5,37	13,90	41,40	230,69
VARIANZA INTRA CORRIDA (VR)	0,01	0,002	0,003	0,13	20,46
S INTRA CORRIDA	0,09	0,04	0,06	0,36	4,52
S ENTRE CORRIDA	0,17	0,06	0,15	0,50	7,60
VARIANZA ENTRE CORRIDA (VB)	0,03	0,003	0,02	0,25	57,77
COCIENTE VR/VB	0,25	0,51	0,15	0,51	0,35
VARIANZA TOTAL	0,04	0,00	0,03	0,37	76,19
S DEL LABORATORIO	0,19	0,07	0,16	0,61	8,73
CV DEL LABORATORIO	2,98	1,24	1,16	1,47	3,78

TRIPOLIFOSFATO DE SODIO					
<u>ESTADÍSTICOS</u>	<u>PARÁMETROS</u>				
	WBC	RBC	HB	HCT	PQ
MEDIA PROMEDIO	6,40	5,37	13,90	41,40	230,69
VARIANZA INTRA CORRIDA (VR)	0,01	0,002	0,003	0,13	20,46
S INTRA CORRIDA	0,09	0,04	0,06	0,36	4,52
S ENTRE CORRIDA	0,17	0,06	0,15	0,50	7,60
VARIANZA ENTRE CORRIDA (VB)	0,03	0,003	0,02	0,25	57,77
COCIENTE VR/VB	0,25	0,51	0,15	0,51	0,35
VARIANZA TOTAL	0,04	0,00	0,03	0,37	76,19
S DEL LABORATORIO	0,19	0,07	0,16	0,61	8,73
CV DEL LABORATORIO	2,98	1,24	1,16	1,47	3,78

CRITERIO DE ACEPTACIÓN.

Utilizando como criterio de aceptación el Coeficiente de Variación (CV), tenemos que el CV obtenido en el laboratorio es \leq al CV establecido por el fabricante, según consta en el Anexo 9.

ANEXO 15. Hoja de Evaluación de Morfología Celular

HOJA DE EVALUACIÓN MORFOLOGÍA DE SANGRE PERIFÉRICA

Analista/Hematólogo:

Fecha y hora:..... **Código de muestra:**.....

A continuación encontrará una hoja donde usted registrará lo que observe en cuanto a morfología celular sanguínea. El frotis fue realizado con sangre periférica anticoagulada y posteriormente teñido con Wright.

INFORME A	INFORME B	INTERPRETACIÓN
+	0-5 x campo	Escaso, leve, discreto, presente, algunos, uno que otro
++	6-10 x campo	regular cantidad, moderada, frecuente
+++	11 y + x campo	abundante , relevante, muy abundante, mayoría

Se debe valorar la morfología y especificar las alteraciones que se encuentren conjuntamente con su valoración de acuerdo con el informe A.

ERITROCITOS

PARÁMETRO A EVALUAR		ESPECIFIQUE	INFORME EDTA	INFORME TPF	OBSERVACIONES
TAMAÑO	NORMAL	NORMOCITO			
	ANISOCITOSIS	MACROCITO MICROCITO			
FORMA	POIQUILOCITOSIS				
CROMÍA	NORMAL	NORMOCROMICO			
	ANORMAL	HIPOCROMICO HIPERCROMICO POLICROMATOFILIA			
DIFERENCIACIÓN	ERITROBLASTOS				
INCLUSIONES					
DISTRIBUCIÓN DE ERITROCITOS	NORMAL				
	ROULEAUX				
	AGLUTINACIÓN				

PLAQUETAS

PARÁMETRO A EVALUAR		ESPECIFIQUE	INFORME EDTA	INFORME TPF	OBSERVACIONES
TAMAÑO	NORMAL	1-15 µm			
	ANORMAL	MACROPLAQUETA			
		MICROPLAQUETAS			
CROMÍA	NORMAL				
	PLAQUETAS GRISES				
PRESENTACIÓN	AGREGADAS				
	SATELITISMO PLAQUETARIO				

LEUCOCITOS

TIPO DE LEUCOCITO: NEUTRÓFILO

PARÁMETRO A EVALUAR		ESPECIFIQUE	INFORME EDTA	INFORME TPF	OBSERVACIONES
TAMAÑO	< 10 µm				
	10-15 µm				
	> 15 µm				
CROMATINA	MADURA				
	INMADURA				
TIPO DE NÚCLEO	REDONDO				
	FORMAS IRREGULARES				
NÚMERO DE LOBULACIONES NUCLEARES	2				
	3-5				
	5 O MÁS				
GRÁNULOS	COLOR				
	ASPECTO	FINOS			
		GRUESO			
	CANTIDAD	ESCASA			
		NORMAL			
EXCESIVA					
BASOFILIA NÚCLEO	LEVE				
	MODERADA				
	INTENSA				
RELACIÓN NÚCLEO-CITOPLASMA	ALTA				
	BAJA				
INCLUSIONES	Vacuolización				
	Cuerpos de Döhle				
CÉLULAS INMADURAS					

TIPO DE LEUCOCITO: BASÓFILO

PARÁMETRO A EVALUAR		ESPECIFIQUE	INFORME EDTA	INFORME TPF	OBSERVACIONES
TAMAÑO	< 10 µm				
	10-15 µm				
	> 15 µm				
GRÁNULOS	COLOR				
	ASPECTO	FINOS			
		GRUESOS			
	CANTIDAD	ESCASA			
		NORMAL			
EXCESIVA					
RELACIÓN NÚCLEO-CITOPLASMA	ALTA				
	BAJA				
CÉLULAS INMADURAS					

TIPO DE LEUCOCITO: EOSINÓFILO

PARÁMETRO A EVALUAR		ESPECIFIQUE	INFORME EDTA	INFORME TPF	OBSERVACIONES
TAMAÑO	< 10 µm				
	10-15 µm				
	> 15 µm				
CROMATINA	MADURA				
	INMADURA				
TIPO DE NÚCLEO	REDONDO				
	FORMAS IRREGULARES				
NÚMERO DE LOBULACIONES NUCLEARES	2-3				
	3 o más				
GRÁNULOS	COLOR				
	ASPECTO	FINOS			
		GRUESO			
	CANTIDAD	ESCASA			
		NORMAL			
EXCESIVA					
BASOFILIA NÚCLEO	LEVE				
	MODERADA				
	INTENSA				
RELACIÓN NÚCLEO-CITOPLASMA	ALTA				
	BAJA				
CÉLULAS INMADURAS					

TIPO DE LEUCOCITO: MONOCITO

PARÁMETRO A EVALUAR		ESPECIFIQUE	INFORME EDTA	INFORME TPF	OBSERVACIONES
TAMAÑO	< 12 µm				
	12-24 µm				
	> 24 µm				
CROMATINA	MADURA				
	INMADURA				
TIPO DE NÚCLEO	ARRIÑONADO				
POSICIÓN DEL NÚCLEO	CENTRAL				
	EXCÉNTRICO				
BASOFÍLIA CITOPLASMA	LEVE				
	MODERADA				
	INTENSA				
GRÁNULOS	COLOR				
	ASPECTO	FINOS			
		GRUESOS			
	CANTIDAD	ESCASA			
		NORMAL			
EXCESIVA					
RELACIÓN NÚCLEO-CITOPLASMA	ALTA				
	BAJA				

INCLUSIONES	Multilobulación				
	Vacuolización				
	OTRAS				
CÉLULAS INMADURAS					

TIPO DE LEUCOCITO: LINFOCITO

PARÁMETRO A EVALUAR		ESPECIFIQUE	INFORME EDTA	INFORME TPF	OBSERVACIONES
TAMAÑO	< 7 µm				
	7-15 µm				
	> 15 µm				
CROMATINA	MADURA				
	INMADURA				
TIPO DE NÚCLEO	REDONDO				
	FORMAS IRREGULARES				
POSICIÓN DEL NÚCLEO	CENTRAL				
	EXCÉNTRICO				
GRÁNULOS	COLOR				
	ASPECTO	FINOS			
		GRUESOS			
	CANTIDAD	ESCASA			
		NORMAL			
EXCESIVA					
RELACIÓN NÚCLEO-CITOPLASMA	ALTA				
	BAJA				
INCLUSIONES	Linfocito atípico				
	Vacuolización				
	OTRAS				
CÉLULAS INMADURAS					

ANEXO 16. Tablas de Variabilidad Inter e Intraobservador

MACROCITOS

Tabla cruzada OBS1*OBS2

MACROCITOS			OBS2		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS1	PRESENTE	Recuento	7	1	8
		% del total	35,0%	5,0%	40,0%
	AUSENTE	Recuento	0	12	12
		% del total	0,0%	60,0%	60,0%
Total		Recuento	7	13	20
		% del total	35,0%	65,0%	100,0%

Medidas simétricas

		Valor	Error estandarizado o asintótico	T aproximada	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,894	,103	4,019	,000
N de casos válidos		20			

Tabla cruzada OBS1*OBS3

			OBS3		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS1	PRESENTE	Recuento	8	0	8
		% del total	40,0%	0,0%	40,0%
	AUSENTE	Recuento	1	11	12
		% del total	5,0%	55,0%	60,0%
Total		Recuento	9	11	20
		% del total	45,0%	55,0%	100,0%

Medidas simétricas

		Valor	Error estandarizado asintótico	T aproximada	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,898	,099	4,037	,000
N de casos válidos		20			

Tabla cruzada OBS2*OBS3

			OBS3		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS2 PRESENTE	Recuento	7	0	7	
	% del total	35,0%	0,0%	35,0%	
AUSENTE	Recuento	2	11	13	
	% del total	10,0%	55,0%	65,0%	
Total	Recuento	9	11	20	
	% del total	45,0%	55,0%	100,0%	

Medidas simétricas

		Valor	Error estandarizado asintótico	T aproximada	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,814	,135	3,628	,000
N de casos válidos		20			

Tabla cruzada OBS1*OBS2

			OBS2		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS1 PRESENTE	Recuento	3	0	3	
	% del total	15,0%	0,0%	15,0%	
AUSENTE	Recuento	0	17	17	
	% del total	0,0%	85,0%	85,0%	
Total	Recuento	3	17	20	
	% del total	15,0%	85,0%	100,0%	

Medidas simétricas

		Valor	Error estandarizado o asintótico	T aproximada	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	1,000	,196	3,254	,001
N de casos válidos		20			

MICROCITOS

Tabla cruzada OBS1*OBS3

			OBS3		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS1	PRESENTE	Recuento	3	0	3
		% del total	15,0%	0,0%	15,0%
	AUSENTE	Recuento	2	15	17
		% del total	10,0%	75,0%	85,0%
Total		Recuento	5	15	20
		% del total	25,0%	75,0%	100,0%

Medidas simétricas

		Valor	Error estandarizado	T aproximada	Significación aproximada
			asintótico		
Medida de acuerdo	Kappa	,802	,130	3,659	,000
N de casos válidos		20			

Tabla cruzada OBS2*OBS3

			OBS3		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS2	PRESENTE	Recuento	3	0	3
		% del total	15,0%	0,0%	15,0%
	AUSENTE	Recuento	2	15	17
		% del total	10,0%	75,0%	85,0%
Total		Recuento	5	15	20
		% del total	25,0%	75,0%	100,0%

Medidas simétricas

		Valor	Error estandarizado	T aproximada	Significación aproximada
			o asintótico		
Medida de acuerdo	Kappa	,802	,196	3,254	,001
N de casos válidos		20			

EQUINOCITOS

Tabla cruzada OBS1*OBS3

			OBS3		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS1	PRESENTE	Recuento	9	2	11
		% del total	45,0%	10,0%	55,0%
	AUSENTE	Recuento	0	9	9
		% del total	0,0%	45,0%	45,0%
Total		Recuento	9	11	20
		% del total	45,0%	55,0%	100,0%

Medidas simétricas

		Valor	Error estandarizado asintótico	T aproximada	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,818	,135	3,569	,000
N de casos válidos		20			

Tabla cruzada OBS1*OBS2

			OBS2		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS1	PRESENTE	Recuento	10	1	11
		% del total	50,0%	5,0%	55,0%
	AUSENTE	Recuento	1	8	9
		% del total	5,0%	40,0%	45,0%
Total		Recuento	11	9	20
		% del total	55,0%	45,0%	100,0%

Medidas simétricas

		Valor	Error estandarizado asintótico	T aproximada	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,800	,159	3,146	,002
N de casos válidos		20			

Tabla cruzada OBS2*OBS3

			OBS3		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS2 PRESENTE	Recuento	9	2	11	
	% del total	45,0%	10,0%	55,0%	
AUSENTE	Recuento	1	8	9	
	% del total	5,0%	40,0%	45,0%	
Total	Recuento	10	10	20	
	% del total	50,0%	50,0%	100,0%	

Medidas simétricas

		Valor	Error estandarizado asintótico ^a	T aproximada ^b	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,815	,238	2,981	,003
N de casos válidos		20			

ESFEROCITOS

Tabla cruzada OBS1*OBS2

			OBS2		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS1 PRESENTE	Recuento	2	0	2	
	% del total	10,0%	0,0%	10,0%	
AUSENTE	Recuento	2	16	18	
	% del total	10,0%	80,0%	90,0%	
Total	Recuento	4	16	20	
	% del total	20,0%	80,0%	100,0%	

Medidas simétricas

		Valor	Error estandarizado asintótico ^a	T aproximada ^b	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,815	,238	2,981	,003
N de casos válidos		20			

Tabla cruzada OBS1*OBS3

			OBS3		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS1	PRESENTE	Recuento	2	0	2
		% del total	10,0%	0,0%	10,0%
	AUSENTE	Recuento	2	16	18
		% del total	10,0%	80,0%	90,0%
Total		Recuento	4	16	20
		% del total	20,0%	80,0%	100,0%

Medidas simétricas

		Valor	Error estandarizado asintótico ^a	T aproximada ^b	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,888	,205	3,075	,002
N de casos válidos		20			

Tabla cruzada OBS2*OBS3

			OBS3		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS2	PRESENTE	Recuento	3	1	4
		% del total	15,0%	5,0%	20,0%
	AUSENTE	Recuento	1	15	16
		% del total	5,0%	75,0%	80,0%
Total		Recuento	4	16	20
		% del total	20,0%	80,0%	100,0%

Medidas simétricas

		Valor	Error estandarizado asintótico	T aproximada	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,818	,135	3,569	,000
N de casos válidos		20			

ERITROCITOS HIPOCROMICOS

Tabla cruzada OBS1*OBS2

			OBS2		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS1	PRESENTE	Recuento	4	0	4
		% del total	20,0%	0,0%	20,0%
	AUSENTE	Recuento	0	16	16
		% del total	0,0%	80,0%	80,0%
Total		Recuento	4	16	20
		% del total	20,0%	80,0%	100,0%

Medidas simétricas

		Valor	Error estandarizado o asintótico ^a	T aproximada	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	1,000	,000	4,472	,000
N de casos válidos		20			

Tabla cruzada OBS1*OBS3

			OBS3		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS1	PRESENTE	Recuento	4	0	4
		% del total	20,0%	0,0%	20,0%
	AUSENTE	Recuento	0	16	16
		% del total	0,0%	80,0%	80,0%
Total		Recuento	4	16	20
		% del total	20,0%	80,0%	100,0%

Medidas simétricas

		Valor	Error estandarizado o asintótico ^a	T aproximada	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	1,000	,000	4,472	,000
N de casos válidos		20			

Tabla cruzada OBS2*OBS3

			OBS3		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS2	PRESENTE	Recuento	4	0	4
		% del total	20,0%	0,0%	20,0%
	AUSENTE	Recuento	0	16	16
		% del total	0,0%	80,0%	80,0%
Total	Recuento		4	16	20
	% del total		20,0%	80,0%	100,0%

Medidas simétricas

	Valor	Error estandarizado asintótico	T aproximada	Significación aproximada
Medida de acuerdo Kappa	1,000	,000	4,472	,000
N de casos válidos	20			

AGREGACIÓN PLAQUETARIA

Tabla cruzada OBS1*OBS2

			OBS2		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS1	PRESENTE	Recuento	6	0	6
		% del total	30,0%	0,0%	30,0%
	AUSENTE	Recuento	2	12	14
		% del total	10,0%	60,0%	70,0%
Total	Recuento		8	12	20
	% del total		40,0%	60,0%	100,0%

Medidas simétricas

	Valor	Error estandarizado o asintótico	T aproximada	Significación aproximada
Medida de acuerdo Kappa	,783	,142	3,586	,000
N de casos válidos	20			

Tabla cruzada OBS1*OBS3

			OBS3		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS1	PRESENTE	Recuento	6	0	6
		% del total	30,0%	0,0%	30,0%
	AUSENTE	Recuento	2	12	14
		% del total	10,0%	60,0%	70,0%
Total	Recuento	8	12	20	
	% del total	40,0%	60,0%	100,0%	

Medidas simétricas

		Valor	Error estandarizado asintótico	T aproximada	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,783	,142	3,586	,000
N de casos válidos		20			

Tabla cruzada OBS2*OBS3

			OBS3		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS2	PRESENTE	Recuento	6	1	7
		% del total	30,0%	5,0%	35,0%
	AUSENTE	Recuento	2	11	13
		% del total	10,0%	55,0%	65,0%
Total	Recuento	8	12	20	
	% del total	40,0%	60,0%	100,0%	

Medidas simétricas

		Valor	Error estandarizado asintótico	T aproximada	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,881	,168	3,062	,002
N de casos válidos		20			

MACROPLAQUETAS

Tabla cruzada OBS1*OBS2

			OBS2		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS1	PRESENTE	Recuento	9	2	11
		% del total	45,0%	10,0%	55,0%
	AUSENTE	Recuento	0	9	9
		% del total	0,0%	45,0%	45,0%
Total		Recuento	9	11	20
		% del total	45,0%	55,0%	100,0%

Medidas simétricas

		Valor	Error estandarizado	T aproximada	Significación aproximada
			asintótico		
Medida de acuerdo	Kappa	,802	,130	3,659	,000
N de casos válidos		20			

Tabla cruzada OBS1*OBS3

			OBS3		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS1	PRESENTE	Recuento	8	3	11
		% del total	40,0%	15,0%	55,0%
	AUSENTE	Recuento	0	9	9
		% del total	0,0%	45,0%	45,0%
Total		Recuento	8	12	20
		% del total	40,0%	60,0%	100,0%

Medidas simétricas

		Valor	Error estandarizado	T aproximada	Significación aproximada
			asintótico		
Medida de acuerdo	Kappa	,806	,150	3,303	,001
N de casos válidos		20			

Tabla cruzada OBS2*OBS3

			OBS3		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS2 PRESENTE	Recuento	7	2	9	
	% del total	35,0%	10,0%	45,0%	
AUSENTE	Recuento	1	10	11	
	% del total	5,0%	50,0%	55,0%	
Total	Recuento	8	12	20	
	% del total	40,0%	60,0%	100,0%	

Medidas simétricas

		Valor	Error estandarizado asintótico	T aproximada	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,694	,162	3,119	,002
N de casos válidos		20			

SATELITISMO PLAQUETARIO

OBS1*OBS2 tabulación cruzada

			OBS2		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS1 PRESENTE	Recuento	1	1	2	
	% del total	5,0%	5,0%	10,0%	
AUSENTE	Recuento	0	18	18	
	% del total	0,0%	90,0%	90,0%	
Total	Recuento	1	19	20	
	% del total	5,0%	95,0%	100,0%	

Medidas simétricas

		Valor	Error estándar asintótico	Aprox. S	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,643	,325	3,078	,002
N de casos válidos		20			

OBS1*OBS3 tabulación cruzada

			OBS3		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS1	PRESENTE	Recuento	2	0	2
		% del total	10,0%	0,0%	10,0%
	AUSENTE	Recuento	1	17	18
		% del total	5,0%	85,0%	90,0%
Total		Recuento	3	17	20
		% del total	15,0%	85,0%	100,0%

OBS2*OBS3 tabulación cruzada

			OBS3		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS2	PRESENTE	Recuento	1	0	1
		% del total	5,0%	0,0%	5,0%
	AUSENTE	Recuento	1	18	19
		% del total	5,0%	90,0%	95,0%
Total		Recuento	2	18	20
		% del total	10,0%	90,0%	100,0%

Medidas simétricas

		Valor	Error estándar asintótico	Aprox. S	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,773	,216	3,549	,000
N de casos válidos		20			

Medidas simétricas

		Valor	Error estándar asintótico	Aprox. S	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,643	,325	3,078	,002
N de casos válidos		20			

PICNOSIS

OBS1*OBS2 tabulación cruzada

			OBS2		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS1	PRESENTE	Recuento	1	0	1
		% del total	5,0%	0,0%	5,0%
	AUSENTE	Recuento	0	19	19
		% del total	0,0%	95,0%	95,0%
Total		Recuento	1	19	20
		% del total	5,0%	95,0%	100,0%

Medidas simétricas

		Valor	Error estándar asintótico	Aprox. S	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	1,000	,000	4,472	,000
N de casos válidos		20			

OBS1*OBS3 tabulación cruzada

			OBS3		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS1	PRESENTE	Recuento	1	0	1
		% del total	5,0%	0,0%	5,0%
	AUSENTE	Recuento	0	19	19
		% del total	0,0%	95,0%	95,0%
Total		Recuento	1	19	20
		% del total	5,0%	95,0%	100,0%

Medidas simétricas

		Valor	Error estándar asintótico	Aprox. S	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	1,000	,000	4,472	,000
N de casos válidos		20			

OBS2*OBS3 tabulación cruzada

			OBS3		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS2	PRESENTE	Recuento	1	0	1
		% del total	5,0%	0,0%	5,0%
	AUSENTE	Recuento	0	19	19
		% del total	0,0%	95,0%	95,0%
Total		Recuento	1	19	20
		% del total	5,0%	95,0%	100,0%

Medidas simétricas

		Valor	Error estándar asintótico	Aprox. S	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	1,000	,000	4,472	,000
N de casos válidos		20			

VACUOLIZACIÓN CITOPLASMÁTICA

OBS1*OBS2 tabulación cruzada

			OBS2		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS1	PRESENTE	Recuento	9	1	10
		% del total	45,0%	5,0%	50,0%
	AUSENTE	Recuento	1	9	10
		% del total	5,0%	45,0%	50,0%
Total		Recuento	10	10	20
		% del total	50,0%	50,0%	100,0%

Medidas simétricas

		Valor	Error estándar asintótico	Aprox. S	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,800	,134	3,578	,000
N de casos válidos		20			

OBS1*OBS3 tabulación cruzada

			OBS3		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS1	PRESENTE	Recuento	8	2	10
		% del total	40,0%	10,0%	50,0%
	AUSENTE	Recuento	1	9	10
		% del total	5,0%	45,0%	50,0%
Total	Recuento	9	11	20	
	% del total	45,0%	55,0%	100,0%	

Medidas simétricas

		Valor	Error estándar asintótico	Aprox. S	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,700	,159	3,146	,002
N de casos válidos		20			

OBS2*OBS3 tabulación cruzada

			OBS3		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS2	PRESENTE	Recuento	8	2	10
		% del total	40,0%	10,0%	50,0%
	AUSENTE	Recuento	1	9	10
		% del total	5,0%	45,0%	50,0%
Total	Recuento	9	11	20	
	% del total	45,0%	55,0%	100,0%	

Medidas simétricas

		Valor	Error estándar asintótico	Aprox. S	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,700	,159	3,146	,002
N de casos válidos		20			

LINFOCITOS REACTIVOS

OBS1*OBS2 tabulación cruzada

			OBS2		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS1	PRESENTE	Recuento	10	1	11
		% del total	50,0%	5,0%	55,0%
	AUSENTE	Recuento	1	8	9
		% del total	5,0%	40,0%	45,0%
Total		Recuento	11	9	20
		% del total	55,0%	45,0%	100,0%

Medidas simétricas

		Valor	Error estándar asintótico	Aprox. S	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,798	,135	3,569	,000
N de casos válidos		20			

OBS1*OBS3 tabulación cruzada

			OBS3		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS1	PRESENTE	Recuento	7	4	11
		% del total	35,0%	20,0%	55,0%
	AUSENTE	Recuento	0	9	9
		% del total	0,0%	45,0%	45,0%
Total		Recuento	7	13	20
		% del total	35,0%	65,0%	100,0%

Medidas simétricas

		Valor	Error estándar asintótico ^a	Aprox. S ^b	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,612	,160	2,968	,003
N de casos válidos		20			

OBS2*OBS3 tabulación cruzada

			OBS3		Total
			PRESENTE	AUSENTE	
OBS2	PRESENTE	Recuento	7	4	11
		% del total	35,0%	20,0%	55,0%
	AUSENTE	Recuento	0	9	9
		% del total	0,0%	45,0%	45,0%
Total	Recuento	7	13	20	
	% del total	35,0%	65,0%	100,0%	

Medidas simétricas

		Valor	Error estándar asintótico	Aprox. S	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,612	,160	2,968	,003
N de casos válidos		20			

*Los valores de kappa Interobservador fluctuaron entre 0,612 y 1, obteniendo un kappa global de 0,824 que es equivalente a un nivel de concordancia EXCELENTE.

Tablas de Variabilidad Intraobservador

OBSER1*OBSER1.1 tabulación cruzada

Recuento

		OBSER1.1		Total
		NORMAL	CON ALTERACION	
EXPERTO				
OBSER1	NORMAL	8	0	8
	CON ALTERACION	0	17	17
Total		8	17	25

Medidas simétricas

EXPERTO		Valor	Error estándar asintótico	Aprox. S	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	1,000	,000	5,000	,000
N de casos válidos		25			

OBSERV2*OBSERV2.1 tabulación cruzada

Recuento

		OBSERV2.1		Total
		NORMAL	CON ALTERACION	
INVESTIGADORA 1				
OBSERV2	NORMAL	5	1	6
	CON ALTERACION	0	14	14
Total		5	15	20

Medidas simétricas

INVESTIGADORA 1		Valor	Error estándar asintótico	Aprox. S	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,875	,121	3,944	,000
N de casos válidos		20			

OBSERV3*OBSERV3.1 tabulación cruzada

Recuento

		OBSERV3.1		Total
		NORMAL	CON ALTERACION	
INVESTIGADORA 2				
OBSERV3	NORMAL	6	1	7
	CON ALTERACION	0	13	13
Total		6	14	20

Medidas simétricas

INVESTIGADORA 2		Valor	Error estándar asintótico	Aprox. S	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,886	,110	3,990	,000
N de casos válidos		20			

* Los valores de kappa Intraobservador fluctuaron entre 0,875 y 1, lo equivalente a un nivel de concordancia EXCELENTE.