

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

**“FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, BIOQUÍMICAS Y
BIOTECNOLÓGICAS”**

PROGRAMA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS DE GRADO

**“ESTUDIO COMPARATIVO DEL EFECTO ANTICOAGULANTE IN-VITRO
DEL TRIFOSFATO PENTASÓDICO DE GRADO TÉCNICO, CON EL EDTA Y
EL CITRATO DE SODIO, AREQUIPA 2012”.**

Tesis presentada por el bachiller:

PAUL MICHAEL BUSTINZA DEL CASTILLO

Para optar el Título Profesional de:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

AREQUIPA – PERU

2012

DEDICATORIA

Con profundo agradecimiento y admiración:

A mis padres **Luz y Edgar**

A mi hermana **Katherine**

A amigo incondicional **Dios Todopoderoso**

A los docentes santamarianos que me apoyaron

Porque es a través de todos ellos que mantuve y mantengo, hasta el de hoy, la fuerza física, emocional y espiritual, necesaria, para poder despertarme cada día y saber que todo lo que se me brinda es suficiente como para lograr exponer con hechos que se puede engrandecer el mundo, sí es que se empieza a pensar en los demás antes que en nosotros mismos.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Yenny Lopez Valencia por su asesoría en la realización de este trabajo

A los doctores miembros del jurado evaluador de la tesis, por sus correcciones, consejos y paciencia para mejorar este trabajo

A TODO el personal que labora dentro del Laboratorio Clínico Llerena Ames E.I.R.L., y en especial al doctor Arturo Llerena, por la ayuda incondicional prestada antes, durante y finalizada la investigación.



“Pensar es fácil. Actuar es difícil. Actuar siguiendo el pensamiento propio es lo más difícil, pero hay que intentarlo para cambiar el mundo.”

(INMANUEL KANT)

TABLA DE CONTENIDOS

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCION

CAPITULO I

PLANTEAMIENTO TEORICO

	Pág
1. PROBLEMA DE INVESTIGACION	2
1.1. DETERMINACION DEL PROBLEMA.....	2
1.2. ENUNCIADO.....	2
1.3. DESCRIPCION DEL TEMA DE INVESTIGACION.....	3
1.3.1. ÁREA DE CONOCIMIENTO	3
1.3.2. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	3
1.3.3. ANALISIS Y OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES	4
1.3.4. INTERROGANTES DE LA INVESTIGACION	5
1.4. JUSTIFICACION	6
2. OBJETIVOS	7
2.1. OBJETIVO GENERAL.....	7
2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS	7
3. HIPOTESIS	¡Error! Marcador no definido.
4. MARCO TEORICO	9
4.1. ESQUEMA DE CONCEPTOS BASICOS.....	9
4.1.1. PRUEBAS HEMATOLOGICAS DE RUTINA	9
4.1.1.1. CITOMETRIA HEMATICA	9
4.1.1.2. VELOCIDAD DE ERITROSEDIMENTACION	19
4.1.1.3. PRUEBAS DE COAGULACION	26
4.1.2. ANTICOAGULANTES.....	37
4.1.2.1. ANTICOAGULANTES QUIMICOS IN VITRO.....	37
a) Acido Etilendiaminotetrácetico (EDTA).....	38
b) Citrato de Sodio	45

4.1.3. NEO-ANTICOAGULANTES	52
4.1.4. TRIFOSFATO PENTASODICO (TFPS)	54
4.1.4.1. Fosfatos.....	54
4.1.4.2. Concepto General	55
4.1.4.3. Estructura Molecular	55
4.1.4.4. Propiedades Fisicoquímicas	57
4.1.4.5. Síntesis Química.....	57
4.1.4.6. Uso y aplicaciones.....	58
4.1.4.7. Efecto anticoagulante clínico in-vitro.....	60
4.1.4.8. Estabilidad	62
4.1.4.9. Toxicidad.....	62
4.2. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	63
4.2.1. Antecedentes Nacionales	63
4.2.2. Antecedentes Internacionales.....	64

CAPITULO II

PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

1. CAMPO DE VERIFICACIÓN	68
1.1. AMBITO ESPACIAL.....	68
1.2. UBICACIÓN TEMPORAL.....	68
1.3. POBLACION O UNIDADES DE ESTUDIO	68
2. TECNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACION	72
2.1. TECNICA	72
2.1.1. Técnicas de investigación	72
2.1.2. Técnicas de ejecución de investigación	72
2.1.3. Métodos de evaluación.....	89
2.2. INSTRUMENTOS.....	89
2.3. MATERIALES	90
3. ESTRATEGIA DE RECOLECCION	91
3.1. ORGANIZACIÓN.....	91

3.2. RECURSOS.....	91
3.3. VALIDACION DEL INSTRUMENTO.....	92
4. ESTRATEGIA PARA EL MANEJO DE RESULTADOS	92
4.1. A NIVEL DE SISTEMATIZACION	92
4.1.1. PLAN DE PROCESAMIENTO O SISTEMATIZACIÓN.....	92
4.1.2. PLAN DE OPERACIONES	92
4.2. A NIVEL DE ESTUDIO DE DATOS	93
4.3. A NIVEL DE CONCLUSIONES.....	94
4.4. A NIVEL DE RECOMENDACIONES.....	94

CAPITULO III

RESULTADOS.....	97
DISCUSION DE RESULTADOS	125
CONCLUSIONES	130
RECOMENDACIONES	132
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	133
ANEXOS.....	146
ANEXO N° 1:RANGOS DE REFERENCIA	143
ANEXO N°2:TABLA DE REGISTRO.....	145
ANEXO N°3:MATRIZ DE DATOS A - CITOMETRIA HEMATICA MANUAL/VELOCIDAD DE ERITROSEDIMENTACION/PRUEBAS DE HEMOSTASIA.....	151
ANEXO N°4:TABLA DE REGISTRO.....	151
ANEXO N°5:MATRIZ DE DATOS B – DIFERENCIACION LEUCOCITARIA MANUAL.....	152
ANEXO N°6:TABLA DE REGISTRO.....	157
ANEXO N°7:MATRIZ DE DATOS C – CITOMETRIA HEMATICA AUTOMATIZADA.....	158
ANEXO N°8:TABLA DE REGISTRO.....	165
ANEXO N°9:MATRIZ DE DATOS D – PRUEBAS DE COAGULACION	166

RESUMEN

En el presente estudio de tipo comparativo, el propósito fue determinar si el efecto anticoagulante del Trifosfato Pentasódico (TFPS) de grado técnico (95%) es equivalente al efecto que poseen la sal dipotásica del Ácido Etilendiaminotetracético (EDTA) y el Citrato de Sodio en las pruebas rutinarias de laboratorios de análisis clínicos, buscando de esta forma vislumbrar su posible condición como anticoagulante in-vitro universal.

Las unidades de estudio fueron 100 muestras sanguíneas venosas procedentes de hombres y mujeres adultos, con edades fluctuantes entre 18 y 50 años. A dichos pacientes se les extrajo una muestra de sangre que fue anticoagulada apropiadamente con el TFPS 5%, el EDTA Dipotásico 10%, y el Citrato de Sodio 3.2%, para posteriormente proceder a ejecutar las diferentes pruebas clínicas seleccionadas. Las muestras extraídas con EDTA y Citrato de Sodio fueron utilizadas como controles.

Se evaluaron los siguientes exámenes clínicos: Citometría Hemática Completa (recuento de leucocitos, de eritrocitos, de plaquetas, la diferenciación leucocitaria, dosificación de hemoglobina y determinación del hematocrito) manual y automatizada, la Velocidad de Eritrosedimentación, y tres pruebas hemostáticas (Tiempo de Protrombina, Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada y la Dosificación de Fibrinógeno Plasmático). En el caso de la Citometría manual, cada muestra fue evaluada a intervalos de 0, 6, 12 y 24 horas, mientras que la Citometría automatizada se determinó a las 0 y 24 horas, a fin de analizar el grado de conservación del TFPS.

Tras realizar un análisis independiente del comportamiento mostrado por el EDTA y el TFPS en los diferentes intervalos de tiempo a los que se analizó las pruebas incluidas en la Citometría Hemática Completa Manual (mediante el Análisis de Varianza, reforzado con el estadístico de comparaciones múltiples Tukey) y Automatizada (mediante la prueba T de Student para muestras pareadas) se pudo efectuar una comparación sistemática de cada uno de los resultados (mediante el Test t de Student para muestras independientes), demostrando que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) entre ellos.

Asimismo, en los otros exámenes clínicos consignados para la comparación (mediante el Test t de Student para muestras independientes), se encontró que no existe diferencia

estadísticamente significativa entre los resultados evocados en muestras anticoaguladas con el TFPS y las muestras tratadas con los anticoagulantes usados como controles, a excepción del análisis hemostático del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada, en el cual si apareció una diferencia marcada ($p=0.000$).

Conjuntamente a lo anterior, se elaboró una tabla de contingencia para determinar la validez diagnóstica de cada una de las pruebas clínicas mencionadas cuando se emplea el TFPS como anticoagulante, en contraste a los anticoagulantes usados como controles, clasificando cada uno de los parámetros clínicos según los respectivos valores de referencia (asignados por laboratorio clínico particular donde se realizó la investigación) como Normal o Patológico, y obteniendo como información, que en general estos análisis clínicos realizados en muestras extraídas con TFPS, poseen una validez diagnóstica aceptable (sensibilidad $>80\%$ y especificidad $>90\%$) como prueba médica.

Finalmente, se concluyó que es posible la utilización del TRIFOSFATO PENTASODICO DE GRADO TECNICO para la evaluación de parámetros hematológicos rutinarios, como la Citometría Hemática Completa manual o automatizada (hasta 24 horas después de haber extraído la muestra), la Velocidad de Eritrosedimentación, la estimación del Tiempo de Protrombina y la Dosificación de Fibrinógeno Plasmático; en reemplazo de los anticoagulantes tradicionales como el EDTA y Citrato de Sodio, manteniendo una buena validez diagnóstica, e indirectamente permitiendo la extracción de una sola muestra sanguínea para efectuar todos estos análisis rutinarios, lo cual resultaría beneficioso para los pacientes en quienes la extracción de importantes volúmenes de sangre es en ocasiones difícil y molesta.

ABSTRACT

In this scientific project of comparative type, the aim was determine if the anticoagulant effect of Pentasodium Triphosphate (PSTP) technical grade (95%) is equivalent to the effect of the dipotassium salt of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and sodium citrate, in routine testing of clinical laboratories, and so we can begin to be considered as an anticoagulant in vitro with universal character.

The units of this study were 100 venous blood samples from male and female adults, with ages fluctuating between 18 and 50. Each sample was anticoagulated with PSTP 5%, Dipotassium EDTA 10% and Sodium Citrate 3.2%, properly, to subsequently proceed to execute the selected clinical tests. The samples extracted with EDTA and Sodium Citrate were used as controls.

The following clinical tests evaluated were: manual and automated CBC (WBC, RBC, platelets count, leukocyte differentiation, determination of hemoglobin and hematocrit determination), erythrocyte sedimentation rate and three haemostatic tests (prothrombin time, activated partial thromboplastin time and plasma fibrinogen dosage). For the manual CBC, each sample was assessed at intervals of 0, 6, 12 and 24 hours, while the automated CBC was determined at 0 and 24 hours, in order to analyze the degree of conservation of PSTP.

After perform an independent analysis of the behavior shown by EDTA and PSTP in different time intervals that analyzed the evidence in the manual CBC (by ANOVA and multiple comparison statistic Tukey) and automated (by Student's t test for paired samples) which allowed a systematic comparison of each of the results (using the Student's t test for independent samples), demonstrating no statistically significant differences ($p > 0.05$) between them.

Also, in the other clinical tests entered for comparison (by Student's t test for independent samples), it was found that no statistically significant difference between the results evoked in samples anticoagulated with PSTP and the samples treated with anticoagulants used as controls, except the haemostatic analysis of activated partial thromboplastin time, which if it appeared in a important difference ($p = 0.000$).

In conjunction with the above, it was prepared a contingency table to determine the diagnostic validity of each of the mentioned clinical test when used as the anticoagulant PSTP in contrast to the anticoagulants used as controls, classifying each of the clinical parameters according to the respective reference values (assigned by the particular clinical laboratory where the research was developed) in “normal” or “pathological” and obtaining the information that these laboratory tests developed on samples obtained with PSTP, generally, have an acceptable diagnostic accuracy (sensitivity >80% and specificity >90%) as a medical test.

Finally, it was concluded that it is possible to use the technical grade PSTP for evaluating routine hematology parameters, including manual or automated CBC (until 24 hours after removal of the sample), erythrocyte sedimentation rate, the estimation of prothrombin time and the dosage of plasma fibrinogen; in replacement of traditional anticoagulants such as EDTA and Sodium Citrate, maintaining a good diagnostic accuracy and indirectly allowing the extraction of a single blood sample to perform all these routine tests, which would be beneficial for patients in whom the removal of large volumes of blood is sometimes difficult and annoying.



INTRODUCCIÓN

Aprovechando el aumento de la concientización mundial sobre el cuidado y prevención de la salud basada netamente en pruebas de laboratorio como medio de diagnóstico, es que se ve por necesario la continua innovación y desarrollo de metodologías e instrumentos que permitan agilizar el procesamiento y análisis de muestras biológicas, para el beneficio del paciente y del laboratorio clínico.

Uno de los casos que se ciernen a esta realidad es el observado en el servicio de Hematología de los laboratorios clínicos particulares y hospitalarios, en los que la cantidad muestral obtenida no necesariamente es equivalente a los exámenes a realizar, sino que más que todo está restringida al tipo de prueba que se hará. Y es que pese a que son de 4,5 a 6 litros la cantidad media de sangre que contiene el cuerpo de un ser humano adulto, muchas personas se muestran en desacuerdo con las “excesivas” cantidades de sangre que se les extrae.

Específicamente, el asunto va referido a los análisis rutinarios que se suelen solicitar, como lo son: la Citometría Hemática Completa (recuento de leucocitos, de eritrocitos, de plaquetas, la diferenciación leucocitaria, dosificación de hemoglobina y determinación del hematocrito), la Velocidad de Eritrosedimentación y tres pruebas de coagulación (Tiempo de Protrombina, Tiempo de Tromboplastina Parcial y la Dosificación de Fibrinógeno), para los cuales, actualmente es necesario el empleo de muestras sanguíneas obtenidas con 2 tipos de anticoagulantes, por un lado el famoso ácido etilendiaminotetrácico (EDTA) y, por otro, el Citrato de Sodio, respectivamente, ya que ninguno de los dos es útil para realizar TODOS los exámenes mencionados.

Entonces, una problemática surge a partir de que la comodidad del paciente suele verse afectada al tener que extraerle mayor cantidad de muestra para dichos exámenes (incluso dicha molestia es mayor en tipos específicos de pacientes, por ejemplo personas con terapia oncológica o infantes), y por otra parte, se da lugar a la posibilidad de la aparición de errores, a cargo de los profesionales encargados de la extracción muestral, en la elección adecuada del tipo de anticoagulante a usar para poder desarrollar análisis clínicos específicos, que a la larga, sumado al tema económico, implicarían inconvenientes para el propio laboratorio.

Por todo esto, es que nace la posibilidad de encontrar un anticoagulante económico y con carácter universal que evite o minimice estas dificultades. Muchos estudios en diferentes partes del mundo, fijan su interés en tal objetivo, pero hasta el momento no se ha reconocido oficialmente a una sustancia capaz de cumplir con todo lo buscado, y esto debido a que en algunos casos, los productos no poseen la universalidad necesaria (presentan pequeños defectos, que los deshabilita para realizar alguno de los exámenes mencionados), en otros el inconveniente estaría en el elevado costo de su producción, y también está el hecho de que algunos no son del todo estables (sólo son útiles por un período de tiempo, desde su contacto con la muestra sanguínea), etc.

Es a partir del año 2005, que empiezan a surgir una serie de investigaciones (todas de origen venezolano) que van desenmascarando la actividad anticoagulante in-vitro del Trifosfato Pentasódico, o también conocido como Tripolifosfato de Sodio, gracias a la propiedad que tiene de unirse con iones metálicos tales como el calcio, evitando que este catión divalente intervenga en el proceso de coagulación sanguínea, característica que ha permitido intuir su posible utilidad en la evaluación de ciertos parámetros hematológicos dentro de los laboratorios de análisis clínicos.

El Trifosfato pentasódico es una sustancia mundialmente muy empleada como aditivo de detergentes y otros productos de limpieza, justamente por la propiedad quelante que posee.

Las investigaciones evaluaron dicha actividad para exámenes hematológicos por separado (nunca se ha evaluado efecto en la prueba de la velocidad de eritrosedimentación, ni en el dosaje de fibrinógeno), obteniendo buenos resultados y empezando a vislumbrar su posible utilidad como anticoagulante in-vitro para la realización de ciertos análisis clínicos. Pero hay que señalar que hasta el momento, sólo 1 estudio ha inferido que la actividad anticoagulante de esta sustancia, con una pureza del 99% y a una concentración del 5% (p/v), posee una equivalencia estadística con el desempeño de los 2 anticoagulantes señalados anteriormente, específicamente con la sal dipotásica del EDTA (1.8mg/ml) y el Citrato de Sodio (3.8%), ambos en presentación de tubo al vacío o vacutainer.

Entonces aparentemente, comenzaría a existir indicios de que la propiedad anticoagulante in-vitro de esta sustancia tenga el tal anhelado carácter universal buscado, aunque como es conocido, para llegar a ello, no basta con tener de un único antecedente de referencia, se requieren muchos más para afirmar tal proposición. Por lo que aparece la oportunidad de poder aseverar y confirmar la validez de todo esto y a la vez complementar y aportar resultados que cimienten dicho descubrimiento.

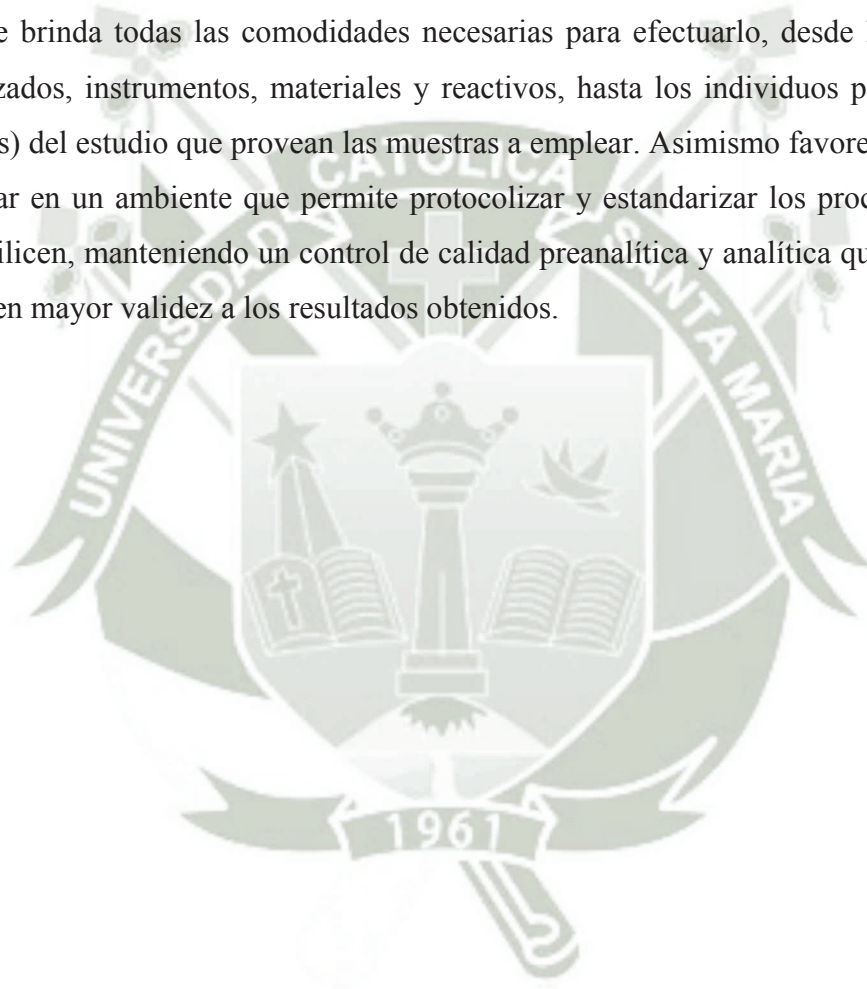
Es por ello, sumando al actual desinterés nacional presentado hacia la investigación para el descubrimiento de nuevos anticoagulantes in-vitro dentro del campo hematológico, que se decide la procreación de esta tesis.

Para su elaboración se tiene como base principal a la investigación mencionada anteriormente, pero se ha querido modificar algunos aspectos con los que este autor está en desacuerdo y cree que pueden ser mejorados y ampliados, para así brindar un enfoque particular, otorgándole una originalidad específica que permita darle una mayor validez al uso como anticoagulante in-vitro del Trifosfato pentasódico en los Laboratorios clínicos.

Primeramente, se ha decidido emplear el Trifosfato pentasódico con grado técnico o industrial, es decir con una pureza del 95% y ya no del 99% (utilizada en la investigación de referencia). La razón de ello es porque, en este estudio se pretende demostrar su actividad anticoagulante in-vitro en pruebas hematológicas rutinarias: Citometría Hemática Completa (manual y automatizada), Velocidad de Eritrosedimentación, los 2 tiempos básicos de coagulación (Tiempo de Protrombina y Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada) y la Dosificación de Fibrinógeno, pero buscando correlacionarla con una de las características básicas que debe tener un anticoagulante in-vitro, que es, ser económico. Y es que actualmente es a éste grado de pureza que el Trifosfato Pentasódico se produce en grandes cantidades a nivel mundial, y es el grado al cual es importado y comercializado en grandes proporciones a nivel nacional (principal materia prima importada de China entre los años 2008-2010, según reporte de Comercio Bilateral del Ministerio de Comercio Exterior y Turismo), por lo que el precio termina siendo muy accesible.

De la misma forma, se intenta definir el grado de conservación que podría tener el Trifosfato Pentasódico como anticoagulante, para poder desarrollar análisis hematológicos (específicamente las pruebas relacionadas a la Citometría Hemática Completa) no sólo horas después de haber extraído la muestra, sino también pasado un día de haberlo hecho, a favor de poder compararlo con una de las grandes ventajas que tiene el EDTA, que implica mantener estable una muestra de sangre, hasta 24 horas después de haberla obtenido, para su correspondiente análisis.

La parte experimental, del presente estudio, es desarrollada en un laboratorio particular local, que brinda todas las comodidades necesarias para efectuarlo, desde los equipos automatizados, instrumentos, materiales y reactivos, hasta los individuos participantes (pacientes) del estudio que provean las muestras a emplear. Asimismo favorece el hecho de trabajar en un ambiente que permite protocolizar y estandarizar los procedimientos que se utilicen, manteniendo un control de calidad preanalítica y analítica que al mismo tiempo den mayor validez a los resultados obtenidos.





CAPITULO I

PLANTEAMIENTO TEÓRICO

I. PLANTEAMIENTO TEÓRICO

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. DETERMINACIÓN DEL PROBLEMA

El propósito de esta investigación está determinado por la búsqueda de una sustancia que posea una utilidad equivalente a la de los 2 anticoagulantes in-vitro más importantes (EDTA y Citrato de Sodio) empleados habitualmente en el área hematológica de los laboratorios clínicos para desarrollar los exámenes más elementales, es decir, que sea una sustancia capaz de fusionar sus propiedades para poder reemplazarlos, y que a su vez sea económica y no tóxica, a fin de universalizar su condición de anticoagulante único para la realización de los exámenes hematológicos de rutina.

Se requiere encontrarla, para mejorar la comodidad de aquellas personas que son remitidas a realizarse las pruebas hematológicas más básicas, y que muchas veces no muestran agrado o disponibilidad a la idea de tener que despojarse de algunos mililitros de sangre adicionales a la cantidad necesaria.

El Trifosfato Pentasódico se presenta como una alternativa muy prometedora para cumplir con los requisitos trazados. Se espera que su presentación industrial (grado técnico), no debiera ser un obstáculo para expresar su función anticoagulante en las pruebas rutinarias de análisis sanguíneos y por el contrario sumaría como una ventaja económica.

1.2. ENUNCIADO

Estudio comparativo del efecto anticoagulante in-vitro del Trifosfato Pentasódico de grado técnico, con el EDTA y el Citrato de Sodio,
Arequipa 2012.

1.3. DESCRIPCIÓN DEL TEMA DE INVESTIGACIÓN

1.3.1. ÁREA DE CONOCIMIENTO

Campo	:	Ciencias de la Salud
Área Específica	:	Laboratorio Clínico
Especialidad	:	Hematología
Línea o Tópico	:	Desarrollo de nuevos anticoagulantes para la pre-analítica de Laboratorios de Análisis Clínicos

1.3.2. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

a) Lógica de la Investigación	:	Cuantitativa
b) Nivel de Investigación	:	Experimental
c) Tipo del Estudio	:	Comparativo Prospectivo
Por el Tipo de Datos a utilizar	:	Prospectivo
Por el Número de Mediciones de las Variables	:	Longitudinal
Por el Número de Población o Muestra	:	Comparativo
Por el Ámbito de Recolección	:	De Laboratorio

1.3.3. ANALISIS Y OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

	VARIABLES	TIPO	INDICADORES	INSTRUMENTO /TECNICA
V. INDEPENDIENTE	Solución de Trifosfato Pentasódico de grado técnico (TFPS·GT)	Cuantitativa	5 %	Disolución Simple
	V. DEPENDIENTES	Efecto anticoagulante del TFPS·GT en Citometría hemática manual	Cuantitativa continua	Recuento de leucocitos
Recuento de eritrocitos				
Recuento de plaquetas				Recuento en lámina
Recuento diferencial leucocitario				Recuento manual en frotis
Concentración de Hemoglobina				Cianometahemoglobina
Valor de Hematocrito				Micrométodo
V. DEPENDIENTES	Efecto anticoagulante del TFPS·GT en Citometría hemática automatizada	Cuantitativa continua	Recuento de leucocitos, eritrocitos y plaquetas	Corriente directa y enfoque hidrodinámico
			Recuento leucocitario diferencial	
			Concentración de Hemoglobina	Método SLS libre de cianuro
			Valor del hematocrito	Detección acumulativa de altura de pulsos
V. DEPENDIENTES	Efecto anticoagulante del TFPS·GT en la velocidad de eritrosedimentación	Cuantitativa discreta	Valor de la velocidad con la que sedimentan los hematíes	Wintrobe
V. DEPENDIENTES	Efecto anticoagulante del TFPS·GT en pruebas de tiempos de coagulación	Cuantitativa discreta	Valor del Tiempo de Protrombina	Técnica manual
			Valor del Tiempo de Tromboplastina Parcial	
			Concentración de Fibrinógeno Plasmático	

1.3.4. INTERROGANTES DE LA INVESTIGACION

- a) ¿Tendrá el Trifosfato Pentasódico de grado técnico un efecto anticoagulante equivalente al EDTA Dipotásico para desarrollar pruebas de Citometría Hemática Completa (recuento de leucocitos, eritrocitos, plaquetas, diferenciación leucocitaria, dosificación de hemoglobina y determinación del hematocrito) Manual, en muestras analizadas al momento de su extracción y pasadas las 6, 12 y 24 horas?
- b) ¿Tendrá el Trifosfato Pentasódico de grado técnico un efecto anticoagulante equivalente al EDTA Dipotásico para desarrollar pruebas de Citometría Hemática Completa (recuento de leucocitos, eritrocitos, plaquetas, diferenciación leucocitaria, dosificación de hemoglobina y determinación del hematocrito) Automatizada, en muestras analizadas al momento de su extracción y pasadas las 24 horas?
- c) ¿Tendrá el Trifosfato Pentasódico de grado técnico un efecto anticoagulante equivalente al EDTA Dipotásico para ser útil en la prueba de la Velocidad de Eritrosedimentación analizada en dos horas consecutivas?
- d) ¿Tendrá el Trifosfato Pentasódico de grado técnico un efecto anticoagulante equivalente al Citrato de Sodio para ejecutar pruebas hemostáticas, como la Determinación del Tiempo de Protrombina, del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada y la Dosificación de Fibrinógeno?
- e) ¿Cuál será la validez diagnóstica de las pruebas de Citometría Hemática Completa (recuento de leucocitos, eritrocitos, plaquetas, dosificación de hemoglobina y determinación del hematocrito) empleando el Trifosfato Pentasódico de grado técnico como anticoagulante, con respecto al uso del EDTA Dipotásico?

- f) ¿Cuál será la validez diagnóstica del análisis de la Velocidad de Eritrosedimentación empleando el Trifosfato Pentasódico de grado técnico como anticoagulante, con respecto al uso del EDTA Dipotásico?
- g) ¿Cuál será la validez diagnóstica del análisis del Tiempo de Protrombina, del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada y de la Dosificación de Fibrinógeno Plasmático, empleando el Trifosfato Pentasódico de grado técnico como anticoagulante, con respecto al uso del Citrato de Sodio?

1.4. JUSTIFICACION

La presente investigación se justifica por las siguientes consideraciones:

- **Relevancia Científica:** Existe la posibilidad de que a través de este proyecto se de un acercamiento para encontrar el anticoagulante universal que hasta el día de hoy no ha aparecido y cuya búsqueda esta perdiendo enfoque, pues su rumbo actualmente esta virando a encontrarlo en componentes muy refinados y complejos que al final sólo impliquen un alto costo de producción y por ende un alto costo de comercialización.
- **Interés y actualidad:** Promover el uso de un anticoagulante in vitro en la hematología clínica moderna para facilitar la comodidad física de los pacientes, durante la fase pre-analítica, así como la comodidad económica de los propios laboratorios de análisis biológicos.
- **Factibilidad:** Se cuenta con las instalaciones, reactivos y materiales adecuados para su realización, así como también con las unidades de estudio, literatura especializada y conocimiento metodológicos.
- **Originalidad:** Este estudio posee una originalidad específica, ya que a pesar de que reconoce antecedentes investigativos previos, posee un enfoque singular que puede complementar dichos trabajos, fortaleciendo las bases científicas que constaten la eficacia de este nuevo anticoagulante, aperturando de este modo su posible utilidad en el mercado.

- **Situación Profesional:** Impulsar la difusión del tema, pues es de interés para todos los profesionales que se desempeñen en un Laboratorio de Análisis Clínicos estar al tanto sobre la aparición de nuevos materiales y/o reactivos alternativos que presenten evidentes ventajas en dicha área.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar si el efecto anticoagulante del Trifosfato Pentasódico de grado técnico, es equivalente al efecto exhibido por el EDTA (en pruebas de citometría hemática completa y la velocidad de eritrosedimentación) y el Citrato de Sodio (en el análisis del tiempo de protrombina, tiempo de tromboplastina parcial activada y en la dosificación de fibrinógeno).

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar el efecto anticoagulante del Trifosfato Pentasódico de grado técnico con el EDTA Dipotásico en pruebas manuales de Citometría Hemática Completa (recuento de leucocitos, eritrocitos, plaquetas, diferenciación leucocitaria, dosificación de hemoglobina y determinación del hematocrito) realizadas a muestras al momento de haber sido extraídas y pasadas las 6, 12 y 24 horas desde la extracción.
- Comparar el efecto anticoagulante del Trifosfato Pentasódico de grado técnico con el EDTA Dipotásico en pruebas automatizadas de Citometría Hemática Completa (recuento de leucocitos, eritrocitos, plaquetas, diferenciación leucocitaria, dosificación de hemoglobina y determinación del hematocrito) realizadas a muestras al momento de haber sido extraídas y pasadas las 24 horas desde la extracción.
- Comparar el efecto anticoagulante del Trifosfato Pentasódico de grado técnico con el EDTA Dipotásico en el análisis de la Velocidad de Eritrosedimentación.

- Comparar el efecto anticoagulante del Trifosfato Pentasódico de grado técnico con el Citrato de Sodio en el análisis del Tiempo de Protrombina, del tiempo de Tromboplastina Parcial Activada y en la Dosificación de Fibrinógeno Plasmático.
- Establecer los índices de validez de las pruebas de Citometría Hemática Completa (recuento de leucocitos, eritrocitos, plaquetas, dosificación de hemoglobina y determinación del hematocrito) cuando se emplea el Trifosfato Pentasódico de grado técnico como anticoagulante, con respecto al uso del EDTA Dipotásico.
- Establecer los índices de validez del análisis de la Velocidad de Eritrosedimentación cuando se emplea el Trifosfato Pentasódico de grado técnico como anticoagulante, con respecto al uso del EDTA Dipotásico.
- Establecer los índices de validez de los análisis del Tiempo de Protrombina, del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada y de la Dosificación de Fibrinógeno Plasmático, cuando se emplea el Trifosfato Pentasódico de grado técnico como anticoagulante, con respecto al uso del Citrato de Sodio.

3. HIPÓTESIS

Dado que el Trifosfato Pentasódico posee propiedades anticoagulantes conocidas es posible que dicho efecto, aún teniendo un grado técnico, sea equivalente al efecto exhibido por anticoagulantes in-vitro tradicionales usados en Laboratorios de Análisis Clínicos, como el EDTA en pruebas de Citometría Hemática Completa y en el examen de la Velocidad de Eritrosedimentación, así como con el Citrato de Sodio en pruebas de hemostasia como el Tiempo de Protrombina, Tiempo de Tromboplastina Parcial y la Dosificación de Fibrinógeno Plasmático.

4. MARCO TEÓRICO

4.1. ESQUEMA DE CONCEPTOS BÁSICOS

4.1.1. PRUEBAS HEMATOLÓGICAS DE RUTINA

4.1.1.1. CITOMETRIA HEMATICA COMPLETA

Análisis clínico multiparamétrico, más frecuentemente solicitado en la práctica médica, que involucra un conjunto de técnicas que permiten estudiar, de manera descriptiva y cuantitativa, el compartimiento celular sanguíneo para el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades hematológicas y de algunas no hematológicas.¹

Para su referencia existen diferentes denominaciones, aunque rutinariamente se le suele conocer como “hemograma”. Hoy en día, el término “citometría hemática” parece ser el más adecuado (*cit* = célula, *metros* = medida, *haema*, *haematos* = sangre) porque es el que mejor describe al estudio de laboratorio destinado a informar sobre el número y las características de las células de la sangre. El clásico “hemograma” es un poco inexacto, ya que el resultado del examen no es precisamente un representación gráfica de la sangre y de la misma manera el término de “biometría hemática” es incorrecto, pues atendiendo a la etimología (*bios* = vida, *metros* = medida) en tanto que el estudio no se refiere a la medida de la vida, por lo que debiera abandonarse.²

Su nomenclatura americana corresponde a las siglas CBC (Complete Blood Count), que en español se traduciría como “Conteo Sanguíneo Completo”, y es que no sólo involucra cuantificar elementos sanguíneos, sino que también permite evaluar la proporción y variaciones de una serie de valores respecto a dichos elementos.

¹ BARBON F. Marcos, “Hematimetría: Del microscopio al análisis multiparamétrico” conferencia dictada en el Curso General de Hematimetría de León 14-15 diciembre 2007.

² RUIZ A. Guillermo, Fundamentos De Hematología, pág. 13

En general, una citometría hemática abarca los tres grupos celulares sanguíneos: glóbulos blancos (leucocitos), glóbulos rojos (eritrocitos) y plaquetas. El referirse a un hemograma completo o mejor expresado a una citometría hemática completa (CHC) implica los siguientes parámetros:

- Recuento leucocitario total
- Recuento diferencial leucocitario
- Recuento eritrocitario
- Índices morfológicos eritrocitarios
- Contenido de hemoglobina
- Hematocrito
- Recuento plaquetario

La CHC constituye una de las pruebas más solicitadas en el laboratorio clínico, ya que acompaña casi todos los protocolos de diagnóstico, y es, tal vez, con el avance tecnológico, la prueba de rutina que más ha evolucionado, no sólo en el número de parámetros, sino en precisión, exactitud y rapidez.³

Actualmente existen tanto procedimientos manuales como automáticos que permiten su realización, aunque su desarrollo histórico mediante técnicas manuales, tinciones y cámaras de recuento, hoy está casi obsoleto, sobretodo en países desarrollados, donde son sólo de apoyo.

Si bien la citometría automatizada ofrece la posibilidad de proveer otros parámetros adicionales, es conocido que en muchos laboratorios regidos bajo la técnica automatizada, suelen añadir un apartado manual como es el recuento diferencial leucocitario de un extendido de sangre periférica, a fin de conseguir una mejor fiabilidad de los resultados, sobretodo en casos patológicos.⁴ Con lo que se puede afirmar que ambas técnicas pueden ser complementarias.

³ BERRIO Margarita CORREA María, Hemograma: Análisis e interpretación, pág. 14

⁴ MEJIA Gilberto, Interpretación clínica del Laboratorio, pág. 321-325 *passim*.

a) Pruebas evaluadas

- **Recuento leucocitario total:** Referido a contabilizar la cantidad de leucocitos (en cifra de miles) por microlitro (μL) de sangre, para poder evidenciar o no la presencia de una infección o inflamación.

El recuento manual se realiza en el hemocitómetro de Neubauer, tiene una precisión aceptable pero incomparable con la automatizada, aunque aún se le emplea en laboratorios de pequeñas rutinas y para la confirmación de un recuento automatizado extremadamente leucopénico o con una leucocitosis marcada.⁵

- **Recuento diferencial leucocitario:** También se le atribuye la denominación de “fórmula leucocitaria”, consiste en enumerar y obtener información de la distribución relativa de cada subtipo de leucocito en sangre periférica, ya sea en cifras porcentuales (cuenta diferencial relativa) o cifras enteras (cuenta leucocitaria absoluta). Ello es de gran utilidad para el diagnóstico de múltiples enfermedades, orienta en la elección del tratamiento a seguir, etc.

Son cinco subtipos de leucocitos los detectados: los llamados polimorfonucleares (neutrófilos, eosinófilos y los basófilos) y los mononucleares (los linfocitos y monocitos).

A diferencia de la técnica manual (realizada en un frotis de sangre coloreada por los derivados de Romanowsky y por medio de microscopia) los contadores automatizados determinan directamente los valores absolutos de cada subtipo leucocitario según su morfología, a partir de un muestreo numeroso (mayor a los 10 campos tradicionales considerados en la técnica manual).

⁵ GOMES O. Raimundo, Hemograma-Cómo hacer e interpretar, pág. 98

Sin embargo, los resultados obtenidos a partir de frotis sanguíneos generalmente son imprecisos e inexactos, debido a la tendencia de algunas células, especialmente las de gran tamaño, de distribuirse hacia los extremos y al final de las extensiones sanguíneas.⁶

En caso de muestras normales, el recuento diferencial manual es menos preciso que el automático, pues los contadores establecen valores relativos después del recuento de un número mucho mayor de células. Pero para muestras alteradas, es de elección el método manual pues no hay exactitud en el recuento automatizado cuando hay células inmaduras o anómalas presentes en la muestra.⁷

- **Recuento eritrocitario:** Consiste en la determinación del número de eritrocitos (en cifra de millones) por microlitro (μL) de sangre.

El recuento manual en hemocitómetro es laborioso e impreciso, pues requiere bastante tiempo, experiencia y recuentos repetidos para la misma muestra, pudiendo llegar a variaciones $> 10.0\%$. Sobre todo por el hecho de que los leucocitos no se lisan en los procedimientos de dilución y dificultan el recuento.

El recuento automatizado es mucho más preciso y exacto que el manual; por lo que los índices eritrocitarios, derivados matemáticamente de éste, serán más confiables y de mayor valor en la interpretación.⁸

- **Concentración de Hemoglobina:** Medición expresada en gramos de hemoglobina por decilitro de sangre (g/dL). Es la determinación más importante de la serie roja, pues es el verdadero parámetro para el diagnóstico de una anemia.

⁶ BAUER D. Métodos y diagnósticos del laboratorio clínico, pág. 581

⁷ GOMES O. Raimundo, Hemograma-Cómo hacer e interpretar, pág. 99

⁸ *Ibid.*, p. 35

Su medición, tanto manual como automática, requiere de procedimientos espectrofotométricos.

Manualmente la técnica más usada y recomendada por el International Council for Standardization in Hematology (ICSH) corresponde al método de la cianometahemoglobina, ya que dicho complejo hemoglobínico presenta la ventaja de ser estable y directamente proporcional a la concentración de hemoglobina, cuando es medido espectrofotométricamente a 540 nanómetros.⁹

Por su parte, los autoanalizadores emplean una técnica colorimétrica libre de cianuro, que realizan con ayuda del lauril sulfato de sodio como agente lítico surfactante que proporciona la liberación de la hemoglobina y su transformación en un complejo coloreado estable que tiene su pico de máxima absorción de luz en 555 nanómetros y que por tener un poder lítico más potente que el cianato de potasio permite que los leucocitos también sean lisados y los lípidos, digeridos, y que no interfieran en la dosificación de la hemoglobina.¹⁰

- **Hematocrito:** Es la relación porcentual entre las células rojas de la sangre y el plasma, por lo que depende del número de hematíes y de su tamaño. Con su valor se puede confirmar el diagnóstico de diferentes enfermedades, como es el caso de las anemias y la policitemia.

Esta relación es obtenida por la división del volumen porcentual del empaquetamiento de los eritrocitos por el volumen de sangre total, que equivale al 100%.

⁹ BENNINGTON James, Diccionario enciclopédico de Laboratorio Clínico, pág. 245

¹⁰ GOMES O. Raimundo, *Op. cit.*, pág. 125

Después de la automatización de su procedimiento, es la determinación por micro-método (microcentrifugación) la técnica que aún perdura en muchos laboratorios.¹¹

Su determinación automatizada difiere entre los diferentes equipos existentes, algunos de ellos sólo se limitan a calcularla a través del valor del volumen corpuscular medio, mientras que otros como el contador Sysmex[®], la determinan a través de la detección cumulativa de altura de pulsos generada al procesar los hematíes.

El hematocrito en los contadores es más exacto que en la microcentrifugación, pues en este último caso hay atrapamiento del plasma entre los eritrocitos, lo que eleva el valor del hematocrito manual de 0.5% a 1.5% en relación al automático.

La multiplicación del microhematocrito por 0.984 da resultados más próximos a aquellos obtenidos por automatización.

Generalmente tiende a expresarse en valor porcentual, pero también puede hacerse en valores absolutos.¹²

- **Recuento plaquetario:** Consiste en la determinación del número de plaquetas (en cifra de miles) por microlitro (μL) de sangre.

Permite evaluar la eficacia de la producción de estas células por la médula ósea; vigilar los efectos producidos por las distintas terapias quimioterápicas; ofrecer datos para el control y diagnóstico de trastornos hemorrágicos.

En los métodos manuales directos se emplea microscopia, pero las plaquetas al ser muy adherentes a los objetos extraños y entre sí, hace que sea muy difícil contarlas, también porque son muy

¹¹ GONZALES de B. José, Técnicas y métodos de laboratorio clínico, pág. 40

¹² GOMES O. Raimundo, *Op. cit.*, pág. 37

pequeñas y pueden confundirse con detritos¹³, al igual que debe tenerse mucho cuidado con los reactivos y diluciones adecuadas para evitar errores y por ende falsos contajes.¹⁴

El método manual indirecto realizado en un frotis sanguíneo va recomendado para verificar posibles discrepancias en los recuentos directos automatizados. La variabilidad promedio para pacientes con alteraciones numéricas de plaquetas, aunque se haga por triplicado (conteo en 30 campos), esta alrededor del 30%, lo que denota una imprecisión intolerable.

En los equipos automatizados actuales el recuento de plaquetas es directo a través de la tecnología de impedancia eléctrica que consigna como plaquetas a todos los elementos celulares con menos de 30 fL.¹⁵

b) Citometría Automatizada: Sistemas Multiparamétricos

Actualmente con la automatización, se ha conseguido una rapidez y fiabilidad mayor en el procesamiento de los valores cuantitativos de las células sanguíneas.

Incluso, con el pasar de los años muchos equipos han logrado tener la capacidad de profundizar el análisis de cada uno de los parámetros, permitiendo así descubrir anomalías que normalmente no serían detectados con un estudio manual.

Hay que tener conocimiento de que existe una gran diferencia tecnológica entre los diversos fabricantes y entre los diversos modelos de contadores de cada fabricante.

¹³ RODAK Bernadette Hematología: Fundamentos y aplicaciones clínicas, pág. 572

¹⁴ ROMERO S. Hildebrando "Citometría hemática automatizada" 2009, en [<http://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articulos/1662>]

¹⁵ GOMES O. Raimundo, *Op. cit.*, pág. 125

Los analizadores hemáticos son fabricados por varias compañías; entre las más importantes figuran Abbott Laboratories (Cell-dyn), ABX Diagnostics, Bayer Diagnostics, Beckman Coulter. Inc, y Roche Diagnostics (Sysmex).¹⁶

Clasificación de los Autoanalizadores Hematológicos	
Por su generación o aparición¹⁷	Por su capacidad de reconocimiento¹⁸
<ul style="list-style-type: none"> - II generación: Semi automatización (12 parámetros). - III generación: Automatizado con histogramas (18 parámetros). - IV generación: III + dispersogramas. (24 parámetros) - V generación: (28 parámetros, CD4 CD8). 	<ul style="list-style-type: none"> - Contadores de 1 población: Cuentan hematíes, leucocitos y plaquetas. - Contadores de 3 poblaciones: Cuentan hematíes, plaquetas y distinguen 3 poblaciones leucocitarias: pequeñas (linfocitos), grandes (neutrófilos) y medianas (monocitos, eosinófilos, basófilos). - Contadores de 5 poblaciones: además de hematíes y plaquetas hacen recuento diferencial de las 5 poblaciones leucocitarias.

En cuanto al principio de medición, la mayoría de autoanalizadores utilizan la citometría de flujo para analizar una a una las células sanguíneas, basándose en la medida de las propiedades físicas y químicas que tienen cuando son resuspendidas en un medio líquido de acuerdo con determinados principios, como la impedancia o resistencia eléctrica (Sysmex) y la dispersión lumínica (de campo oscuro o de rayo láser).

Los resultados son informados impresos a través de histogramas, diagramas de dispersión, valores numéricos y/o porcentuales para cada parámetro analizado, dependiendo del modelo de equipo.¹⁹

¹⁶ RODAK, Bernadette. *Op cit.*, pág. 568

¹⁷ RUZICKA K. Veitl. "The new hematology analyzer Sysmex XE-2100". Arch Pathol Lab Med 2001; 125: 391-396

¹⁸ GARCIA M. Fundamentos y técnicas de análisis hematológicos y citológicos, pág.93

¹⁹ SUARDIAZ Jorge CRUZ Celso COLINA Ariel. Laboratorio Clínico, pág. 53

Equipos Sysmex

Actualmente, los aparatos con tecnología Sysmex están representados por la Roche Diagnostics.²⁰

Los equipos Sysmex son diversos, se conocen desde los equipos pequeños como el KX-21n y el K-4500, que proporcionan análisis completos de eritrocitos, plaquetas y leucocitos con recuento diferencial de tres componentes; el SF-3000 más grande y el SE-9000 que realizan una citometría hemática de cinco componentes, y los sistemas más nuevos, hasta el SE-9500/9000 o XE-2100 que proporcionan además un recuento de reticulocitos automatizados.

Modelo Sysmex KX-21n

Modelo que permite determinar 18 parámetros hematológicos.

Principio de detección: Para el recuento y caracterización y diferenciación de cada paquete celular emplea el principio de Coulter o también conocido como método de detección por corriente directa. Para la cuantificación de la concentración de hemoglobina emplea el método SLS libre de cianuro y finalmente para medir el hematocrito recurre al método de detección de acumulación de la altura de los pulsos.

Para todo ello utiliza tres subsistemas hidráulicos; el canal para leucocitos, el canal para eritrocitos/plaquetas y un canal separado para hemoglobina.

Para realizar el recuento, la sangre es diluida con un diluyente con un diluyente isotónico (conductor para que conduzca la electricidad con facilidad e isotónico para que no se rompan las células). Posteriormente la sangre diluida pasa a través de la cámara de flujo.

²⁰ GOMES O. Raimundo. *Op. cit.*, pág. 125

Esta cámara presenta un pequeño orificio o apertura que hace las células pasen alineadas y aisladas. A los lados del orificio se encuentran 2 electrodos de platino entre los que se establece una corriente eléctrica constante.²¹

Si el orificio es atravesado únicamente por el líquido diluyente, la resistencia eléctrica medida por lo electrodos es mínima y constante, pero cuando una célula pasa por el orificio se produce un aumento de la resistencia eléctrica y un cambio de potencial entre los electrodos que es recogido por el transductor.

Cambio de resistencia eléctrica = Pulso

El número de señales eléctricas (pulsos) generadas indica el número de células presentes. Asimismo la amplitud del pulso eléctrico es proporcional al tamaño y complejidad de la célula.

Los pulsos registrados pasan al transductor, que los clasifica por tamaños y discrimina de acuerdo a las curvas de distribución de tamaño (umbral) preestablecidas en el sistema y que son propias de cada canal. Por ejemplo, el umbral más bajo de las plaquetas se ajusta en forma automática en el límite de tamaño de 2 a 6 fL y el umbral superior en los 12 a 20 fL, sobre la base de la distribución del tamaño de las partículas. Asimismo, los umbrales inferiores y superiores de los límites de tamaño eritrocitario pueden establecerse entre 25-75 fL y 200-250 fL, respectivamente.²²

²¹ GARCIA M. *Op.cit.* , pág. 90

²² RODAK, Bernadette, *Op. cit.*, pág. 572

El hematocrito se determina en el canal de eritrocitos/plaquetas, basado en el principio de que la altura del pulso generado por el eritrocito es proporcional al tamaño celular. Entonces la altura por acumulación de pulsos de todos los conteos de eritrocitos da como resultado el hematocrito directo.²³

En su propio canal, la sangre es diluida en un agente lítico surfactante, el reactivo lauril sulfato de sodio (SLS) que se encarga de lisar la membrana de los eritrocitos, liberándose la hemoglobina. El grupo globina de dicha molécula, es alterada por el grupo alquilo del SLS. Esto promueve la conversión de la hemoglobina en estado ferroso (Fe^{+2}), al estado férrico (Fe^{+3}), formándose la metahemoglobina, que al combinarse con el SLS, termina por convertirse en un complejo coloreado estable de SLS-metahemoglobina, cuya concentración se mide como absorbancia a 555nm a través de un fotómetro adicionado al canal.²⁴

4.1.1.2. VELOCIDAD DE ERITROSEDIMENTACION

También conocida como velocidad de sedimentación globular (VSG), es una prueba sujeta a variabilidad individual, inespecífica, no concluyente ni definitiva de ninguna enfermedad determinada. Suele solicitarse como una prueba de apoyo al diagnóstico de procesos inflamatorios, neoplásicos, e infecciosos. No obstante, esta prueba puede usarse para averiguar presencia de enfermedades no sospechadas y para seguir el curso de enfermedades manifiestas, usándose en la valoración rutinaria y en la evolución de la enfermedad.²⁵ Al ser una prueba muy simple y poco costosa, ha sido usada como prueba soporte extensamente en medicina clínica, por más de 70 años y aún utilizada de manera frecuente.

²³ SYSMEX KX-21N Manual

²⁴ *Vid.* nota 20

²⁵ MATEO C. Rafael Análisis clínicos hematológicos de rutina [<http://www.emagister.com/analisis-clinicos-hematologicos-rutina-cursos-2334900.htm>]

a) **Definición**

Se define como la medición de la distancia (en milímetros) de la caída de los eritrocitos por una unidad de tiempo (en general una hora) cuando una muestra de sangre anticoagulada se deposita en un tubo especialmente diseñado para tal análisis.²⁶

Emeribe y cols. (1992) indican que debido a que las determinaciones hechas en el intervalo de una hora demuestran que la velocidad de sedimentación no es constante a lo largo de toda la hora, se recomienda evaluarla al cabo de dos horas consecutivas.²⁷

b) **Fundamento**

Sobre lo que se ha escrito extensamente, se dice que básicamente se debe a la formación de agregados de eritrocitos, unidos cara a cara, formando "pilas de monedas" o "rollos" (efecto rouleaux), quedando totalmente claro que no se trata de una aglutinación (agregación irregular), y que la sedimentación ocurre en cierta medida fisiológicamente. Razón por la cual también se dice que la VSG es un medidor de la agregación eritrocitaria e indirectamente de la viscosidad sanguínea.²⁸

Es importante recordar que en condiciones normales existe una carga negativa entre los eritrocitos y que los mantiene separados; esa carga o "potencial zeta" deriva principalmente del ácido n-acetilneuramínico (ácido siálico) de carga negativa situado en la membrana del hematíe.

c) **Dinámica de la reacción**

El fenómeno se desarrolla en tres fases, son cambios que corresponden a la formación de los agregados de los hematíes, su caída rápida y el empaquetamiento final de los rollos en el fondo de la columna de prueba.

²⁶ MIALE J. Hematología: Medicina de laboratorio, pág. 373.

²⁷ EMERIBE A. UKONU G. "Comparative study of erythrocyte sedimentation rate using three diluents". J Med Lab Sci, 2 :41-44.

²⁸ SABAN R. José ALONSO P. Ana. Control global del riesgo cardiometabólico, pág. 65.

- **Primera etapa:** Es una etapa inicial de descenso lento (hemaglutinación) que se da por la tendencia de los hematíes a formar agregados en forma de "pilas de moneda".
- **Segunda etapa:** Es seguida de un descenso rápido (sedimentación)
- **Tercera etapa:** Finalizando con una etapa de descenso lento, referido al acumulo o depósito en el fondo de los eritrocitos.

Para explicar esta secuencia de cambios físicos en la interrelación eritrocitos-plasma, es importante recordar que los glóbulos rojos sedimentan porque son más densos que el plasma. Al sedimentar, los eritrocitos desplazan el plasma hacia arriba, produciendo una corriente ascendente y una fuerza de retraso. En la sangre normal, las fuerzas ascendente y descendente son casi iguales, y por ello hay poca sedimentación. Esto sumado al hecho de que una partícula que sedimenta es pequeña, y la velocidad de sedimentación tenderá a ser baja. Pero al aumentar el peso (por la formación de pilas) por una mayor masa de la partícula que sedimenta, esto es por los agregados mayores que ocurren en los estados patológicos se acelera la velocidad de sedimentación; este efecto es superior que el efecto de retraso que produciría el aumento de volumen de los agregados.

d) Técnicas

Existen dos métodos comúnmente utilizados para medir la VSG: el método de Westergren y el método de Wintrobe. El ICSH (International Committee for Standardization in Hematology) recomienda el de Westergren como el más aconsejable para la práctica clínica.²⁹

- 1) **WESTERGREN:** Técnica validada y aceptada por el Comité Internacional de Estandarización en Hematología (ICSH).

²⁹ GINER M. SISO A. "Utilidad de la VSG en atención primaria". JANO 2006;1622:55-57.

Se añaden 4 ml de sangre venosa total a 1 ml de citrato de sodio 0.102M (diluyente-anticoagulante) y se mezclan por inversión. Luego se vierte en un tubo de vidrio de 300 mm de longitud y 2.55 mm de diámetro, con una escala graduada en mm de 0 a 200. Las lecturas en milímetros (a partir del borde superior del plasma y hasta las células empaquetadas) se realizan después de una o dos horas.

2) **WINTROBE:** En 1935, Maxwell Myer Wintrobe describió una variante metodológica del método de Westergren que utilizaba inicialmente una mezcla de oxalatos como anticoagulante (anticoagulante Wintrobe), aunque actualmente también se emplea EDTA con los mismos resultados. La técnica no requiere dilución, emplea aproximadamente 1ml de sangre venosa anticoagulada con EDTA, la cual se coloca en el tubo de Wintrobe (tubo de vidrio de 110mm de longitud, con un diámetro de 3 mm y graduado en mm en una escala de 0 a 10 cm) y se deja reposar a temperatura ambiente durante una hora en un soporte para mantener la posición vertical; al término, se cuantifica la sedimentación en milímetros desde el borde superior del plasma hasta la base de las células.³⁰

Alas y cols. (2010) dentro de un estudio comparativo entre ambos métodos determinaron que la sensibilidad del método Wintrobe es del 100%, en relación al método de Westergren, siendo una prueba capaz de detectar a los verdaderos enfermos, pero que su especificidad es del 39%, demostrando que no posee la suficiente capacidad de detectar a los verdaderos sanos. Asimismo comentaron que la técnica de Westergren es más complicada de desarrollar y que puede hacerse con la mitad de las cantidades de muestra: anticoagulante.³¹

³⁰ LEMUS V. María VILLASEÑOR S. Alberto “Determinación de la velocidad de sedimentación globular”. Enfermedades infecciosas y microbiología 2009; 29(2):66-69.

³¹ ALAS R. TANIA GARCIA F. DELMY RETANA “Análisis comparativo del método de Wintrobe y el método de Westergren en pacientes de del Hospital Nacional Zacamil”. [Tesis para optar licenciatura en Laboratorio Clínico]. Universidad del Salvador; 2010

Otros autores (Permanyer y Vidal) señalan que el método de Wintrobe tiene la ventaja de que es más sensible a pequeñas variaciones para valores normales pero es menos reproducible para valores patológicos.³²



Pipetas para desarrollar VSG: Westergren (izquierda) y Wintrobe (derecha)

e) Factores influyentes en la reacción

La velocidad de sedimentación globular (VSG) se modifica principalmente cuando existe un desequilibrio humoral que afecta a las proteínas plasmáticas, acelerándose cuando aumenta la producción de fibrinógeno (que recubre los hematíes y los adhiere entre sí formando el efecto rouleaux) o la proporción de globulinas. Estos factores pueden por sí solos alterar la VSG, pero son frecuentes sus asociaciones.³³

e.1) Factores Físicos:

Cuando la forma de los hematíes imposibilita su agrupación en rouleaux, habrá que esperar una velocidad de sedimentación baja. Asimismo que a mayor tamaño de los glóbulos rojos exista una velocidad de sedimentación más acelerada.

³² PERMANYER M. Juan VIDAL E. La velocidad de sedimentación globular, pág. 102

³³ SALAZAR P. Lidiette “Velocidad de sedimentación globular: de vuelta Westergren”. Revista médica de Costa Rica y Centroamérica 2000;6(552)

e.2) Factores Plasmáticos:

Si se presentan situaciones de alteración o atenuación del “potencial zeta”, por el efecto dieléctrico (fuerza de atracción entre dos cargas separadas entre sí por determinada distancia) de las proteínas plasmáticas macromoleculares (fibrinógeno e inmunoglobulinas), ocurrirán variaciones en la tasa de sedimentación, como reflejo de alteraciones de las proteínas del plasma.³⁴

La proporción del efecto rouleux depende de la composición proteica del plasma, sobre todo en cuanto a fibrinógeno y globulinas. La elevación de la VSG es indicativa de aumento de reactantes de fase aguda (fibrinógeno, alfa2-macroglobulina, etc.). Este aumento es resultado de una reacción biológica mediada por citocinas (principalmente interleucina 6) que se desencadena en asociación con procesos inflamatorios y neoplásicos.³⁵

Por otra parte, cuando en una muestra de sangre se disminuye el volumen que ocupan los eritrocitos, los agregados de eritrocitos sedimentan más rápido, y por tanto, en una sangre con un hematocrito bajo se aumenta la velocidad de sedimentación globular.³⁶

e.3) Factores Ajenos a la Sangre:

- Calibre y longitud del tubo: Cuanta más alta sea la columna de la sangre (para un mismo diámetro de tubo), más rápida será la primera fase de sedimentación, debido al retraso de aglomeración de células en el fondo de aquél. Es decir que la sedimentación es más rápida en tubos de gran calibre. La facilidad de manejo y lo apropiado de su soporte hicieron del tubo Wintrobe el favorito de los técnicos.

³⁴ MIALE J. *Op. cit.*, pág. 375

³⁵ DE LA PEÑA Adolfo. Cambios físicos 2012, en <http://adolfoneda.com/cambios-fisicos>

³⁶ *Vid.* nota 31

- Posición del tubo: En todos los métodos es de suma importancia mantener el tubo perfectamente vertical. Mínimos grados de inclinación ejercen marcado efecto acelerador sobre la velocidad de sedimentación. Se cree que se debe al depósito de células en un lado del tubo, lo cual permite mayor facilidad de ascenso del plasma. Sea cual fuere la razón, la inclinación del tubo origina errores técnicos mucho más graves que cualquier otro factor. Es práctico recurrir a soportes que mantengan los tubos perfectamente verticales.³⁷
- Anticoagulante utilizado: Es posible que el anticoagulante afecte lo suficiente el tamaño de los hematíes para alterar la velocidad de sedimentación. Por ejemplo, el oxalato de sodio o de potasio seco escogen los hematíes hasta un 11%. La heparina altera el potencial zeta de la membrana y no puede utilizarse como anticoagulante produciendo una VSG elevada falsa.

Hoy día se utiliza el EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) de potasio seco, debido a que el encogimiento celular es escaso al cabo de 24 horas. Asimismo si la concentración del anticoagulante es demasiado elevada la VSG disminuirá.³⁸

- Efecto del retraso en la realización de la prueba: Es recomendado que la prueba deba prepararse dentro de las 2 horas después de obtener la muestra de sangre, sin embargo es conocido que ésta permanece invariable durante casi 12 horas, si la sangre se ha tratado con EDTA de potasio y se ha guardado a 4°C, pero se comprobará una reducción apreciable de aquélla si se esperan más de 3 horas para realizar la prueba cuando la sangre se ha extraído con oxalato.³⁹

³⁷ LYNCH Matthew, Métodos de Laboratorio 740

³⁸ MIALE J. *Op. cit.*, pág. 376

³⁹ *Vid.* Nota 29

- Temperatura: El Consejo Internacional para la Normalización en Hematología y el Instituto de Normas de Laboratorio Clínico recomiendan que la VSG se lleve a cabo dentro de unos límites de temperatura de 18 y 25 °C. La velocidad de sedimentación es constante a 20°C, entre 22-27°C hay poca variación.

4.1.1.3. PRUEBAS DE COAGULACIÓN

Las pruebas utilizadas para identificar defectos de la hemostasia son empíricas. Los reactivos utilizados para llevarlas a cabo no son puros, y las reacciones correspondientes en gran parte son desconocidas. Su veracidad es proporcional a la experiencia del personal que debe efectuarlas y a la capacidad del médico que debe interpretarlas.⁴⁰

El personal que va a efectuar las pruebas debe conocer la amplitud de los resultados anormales en su propio laboratorio. Resultados que se consideran normales en un laboratorio pueden no serlo en otro.

Actualmente en los laboratorios clínicos un perfil completo de coagulación abarca llevar a cabo desde pruebas básicas, pero inespecíficas como lo son el Tiempo de coagulación, tiempo de sangría y recuento plaquetario, hasta la aplicación de análisis más concluyentes como son los tiempos específicos de coagulación, tiempo de trombina, tiempo de protrombina y tiempo de tromboplastina parcial (para evaluar cada una de las vías), de las cuales son las 2 últimas las que se solicitan.⁴¹

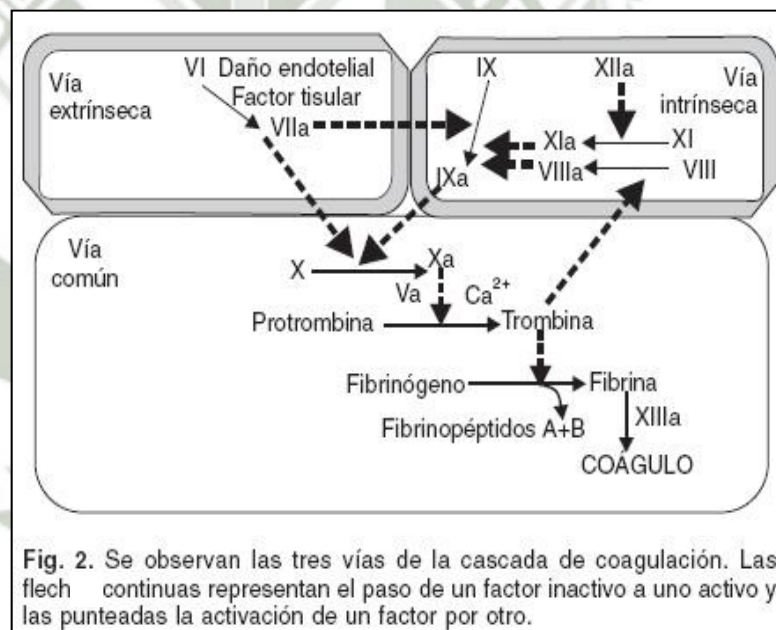
⁴⁰ BLANCO María, “Hemostasia y trastornos hemorrágicos” conferencia dictada en el Hospital Universitario La Paz-Madrid, 2007

⁴¹ DIAZ Alina ALMAGRO Delfina BRITO Alberto. “Sensibilidad del tiempo parcial de tromboplastina activado a la deficiencia de factores VIII y XI y a la heparina”. Revista Cubana Hematología Inmunología Hemoterapia 2001;17(1):41

a) Tiempo de Protrombina (TP)

También llamado “Tiempo de Quick” debido a que cuando Armad Quick en 1943 describe la prueba, no se conocían todavía los factores V, VII y X, por lo que se creía que la prueba únicamente dependía de la concentración de protrombina (factor II de la coagulación).

Es una prueba de gran importancia en el diagnóstico de deficiencias (tanto hereditarias como adquiridas) de los factores de la vía EXTRINSECA y de la vía común de la hemostasia. Y pese a que hoy en día se sabe que existe una interrelación entre la vía extrínseca y la vía intrínseca, el poder analizarlas por separado es útil con fines interpretación de resultados de la coagulación.⁴²



El TP no requiere de la fase de contacto y por lo tanto no se altera en los casos con deficiencia de los factores VIII, IX, XI y XII. Hoy se sabe que la prueba es muy sensible a la deficiencia de los factores II, V, VII y X.

⁴² RUIZ O. Adriana, “Coagulación – anticoagulación” conferencia dictada en el Congreso Coagulación: La perspectiva desde el laboratorio clínico para su evaluación. México 2011

En la actualidad hay tanta diversidad de reactivos que es preferible que el laboratorio verifique la susceptibilidad del sistema de diagnóstico en sus condiciones de trabajo (reactivo, equipo o muestra).⁴³

Fundamento: Medición del tiempo que tarda en coagular el plasma descalcificado, in vitro, después de agregarle un exceso de tromboplastina tisular y calcio, en condiciones óptimas de temperatura 37°C, lo cual inducirá formación de complejos factor III-factor VII.

Condiciones de la muestra: Corresponde a plasma, el cual debe ser conseguido a partir de una muestra de sangre obtenida en un tubo con anticoagulante citrato de sodio 130mmol/L (3.8%) o 109 mmol/L (3.2%) en proporción 9+1 exacta (ejemplo: 4.5ml de sangre+0.5ml de anticoagulante).⁴⁴

Reactivo: La prueba utiliza una tromboplastina “completa” (equivalente a la tromboplastina tisular). Hasta hace unos años se comercializaba sin el calcio adicionado, pero desde 1990 todas las tromboplastinas traen adicionado el cloruro de calcio.

Finalidad: El tiempo de protrombina suele utilizarse para:

- De igual manera es una excelente herramienta para el control de terapias con anticoagulantes orales.
- Estudios de rutina en los análisis prequirúrgicos.
- Revelar deficiencias de los factores participantes (VII, X, V, II) hasta convertir la protrombina en trombina en presencia de actividad de tromboplastina tisular.

⁴³ Vid. nota

⁴⁴ WIENER LAB – SOLUPLASTIN Manual

- Como el punto final de la prueba es la formación de un coágulo de fibrina, se suele informar que la prueba también revelará una deficiencia de fibrinógeno, pero se debe aclarar que no resulta adecuada para detectar cambios menores en su nivel. Sin embargo, el tiempo puede resultar anormal ante un nivel de fibrinógeno muy bajo (80mg/dL).⁴⁵

Factores que influyen en los resultados:

- Normalmente los TP pueden verse prolongados debido a la deficiencia de los factores mencionados anteriormente o por la presencia de algún inhibidor.
- Las variaciones en la relación anticoagulante : muestra o en la concentración de citrato utilizada afecta el TP por lo que se recomienda siempre controlar la concentración de anticoagulante empleada al tomar la muestra.
- El plasma almacenado entre 2-8°C puede sufrir una activación por el frío, lo que resuelve en una reducción significativa del TP.⁴⁶
- La sensibilidad del TP en la detección de deficiencias varía entre las tromboplastinas comercialmente disponibles, debido mayoritariamente a los diferentes tejidos animales utilizados y a los métodos de preparación de los reactivos.

⁴⁵ MORAN V. Luis. Obtención de muestras sanguíneas de calidad analítica, pág. 93

⁴⁶ Vid. Nota 44

- La diferente metodología e instrumentación utilizada por cada laboratorio aumenta la variabilidad de dicha prueba.⁴⁷ Se sugiere que las muestras deben colocarse en tubos de plástico o de vidrio siliconado, no porque impidan la coagulación, sino porque que la retrasan, ya que al no ser superficies polianiónicas (cargadas negativamente) impiden la activación del factor XII y la adherencia de las plaquetas a las paredes del tubo.

Unidades de informe o de expresión de resultados:

- **Tiempo de Protrombina**

Se expresa en segundos, como el promedio de los tiempos registrados en diferentes mediciones, con un mínimo de dos repeticiones en presencia de un plasma normal o referencial.

Los resultados no deben ser mayores o menores a 3 segundos del TP normal. Se debe repetir la prueba por paciente y el duplicado no debe ser mayor o menor a un segundo. De ocurrir lo contrario se debe repetir el análisis.

Libros clínicos actuales citan al tiempo de protrombina a valores normales sólo en segundos. Dependiendo del reactivo de tromboplastina a usar, los valores van de 10-12 seg. (Henry 2001) o así como 11-16 seg. (Lewis 2001). Estas referencias aplican al método Quick.

⁴⁷ MENDEZ A. José. Evaluación clínica de la coagulación por tromboelastografía en la especie equina [tesis doctoral] Universidad de Córdoba; 2011

- **Actividad Protrombínica**

Expresada en porcentaje. Fue aceptada por la OMS desde 1983 e introducida en la práctica clínica para reducir las discrepancias entre los diferentes reactivos y armonizar los rangos terapéuticos de la terapia anticoagulante oral.

Se expresa como porcentaje con relación a una Curva de Calibración obtenida procesando diluciones de un pool de plasma normales frescos (al menos 6 plasmas⁴⁸), a los que se asigna un valor del 100% de actividad. El porcentaje del paciente se obtiene por interpolación de su tiempo de protrombina en dicha curva.

Al igual que para el Tiempo de Protrombina, sus unidades dependen de cada reactivo.⁴⁹

Curva de Calibración: La curva permitirá estandarizar los resultados dentro de un laboratorio, se debe construir no sólo para obtener los resultados en porcentaje, sino también con cada cambio de lote de reactivo, de cualquier instrumento o del anticoagulante empleado. Para lo cual se trabajará con un pool de plasmas extraídos con el mismo anticoagulante que el de las muestras a testear.⁵⁰

- **Relación Normalizada Internacional (INR)**

Los resultados en segundos para un tiempo de protrombina en un individuo varían dependiendo del tipo de reactivo que se utiliza. Esto se debe a las diferencias entre los distintos lotes de tromboplastina utilizada en el reactivo para realizar la prueba.

⁴⁸ Vid. Nota 44

⁴⁹ HORSTI J. "Prothrombin time: Evaluation of Determination Methods". Hematology reports 2002; 1(2):17-25

⁵⁰ Vid. Nota 45

Es por esto que en 1984 el Comité científico y de estandarización (SSC) de la Sociedad Internacional en Trombosis y Hemostasia (ISTH) que forma parte de la Organización Mundial de Salud (OMS) estableció las guías para estandarizar los resultados que permitan realizar de manera confiable el TP y que los resultados informados por distintos laboratorios que usaran diferentes tromboplastinas sea comparable, para lo cual se determinó sea el uso del INR como la unidad de medición global.

Cada fabricante asigna un valor de ISI (Índice Internacional de Sensibilidad), que no es otra cosa que una calificación de la calidad de la tromboplastina, para cualquier tromboplastina tisular que fabrican. El valor ISI indica cómo un lote particular de factor tisular se compara con una muestra normalizada a nivel internacional. Mientras el valor del ISI este más cercano a 1 el ISI la tromboplastina es de mejor calidad.⁵¹

Matemáticamente el INR es la proporción del tiempo de protrombina del paciente a uno normal (control) de la muestra, elevado a la potencia del valor ISI para el reactivo utilizado:

$$\text{INR} = \left(\frac{\text{PT}_{\text{test}}}{\text{PT}_{\text{normal}}} \right)^{\text{ISI}}$$

El INR sólo debe ser utilizado para el control de la anticoagulación oral y nunca en pacientes normales, ya que se calcula a partir de tromboplastinas diseñadas para obtener una alta sensibilidad a los déficits de los factores vitamina K dependiente, y su uso con otros fines podría resultar inconveniente.⁵²

Dejando de lado esta referencia mundial aplicada a pacientes con una terapia anticoagulante oral, son los segundos, la unidad recomendada para informar los resultados de TP.

⁵¹ MCPHERSON Richard PINCUS Matthew. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, pág. 865

⁵² Acedo M. Antonio. "Aspectos técnicos de la anticoagulación oral 2008", en: <http://www.neurologia.rediris.es/congreso-1/conferencias/h-general-4.html>

b) Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPa):

Ensayo que permite valorar las vías intrínseca y común del sistema de coagulación.

Fundamento: Se fundamenta en la medición del tiempo (en segundos) que tarda en coagular el plasma en presencia de una tromboplastina “parcial” (cefalina) activada mediante una sustancia de contacto (tierra diatomeas, caolín, ácido elágico) más la presencia de calcio. Ello a diferencia del tiempo de protrombina que utiliza una tromboplastina “completa”.⁵³

Condiciones de muestra: Son exactamente las mismas que las referidas para la realización del TP.

Procedimiento: Se mide en segundos el tiempo que tarda en formarse el coágulo cuando se adiciona el calcio a la mezcla de reacción (tromboplastina parcial más el activador y plasma citratado) a 37 °C.

Reactivo: La mayoría de personas ignora que en esencia tanto el reactivo de TP como de TTPa son el mismo, la diferencia estriba en que para el TTPa se hace una extracción orgánica, eliminando una apolipoproteína, haciendo que el tejido que se emplea para elaborarlo quede de manera parcial. Cuando a ese reactivo se le adiciona un activador adquiere el nombre de Tiempo de Tromboplastina parcial activada (TTPa), esta activación previa se hace para evitar que la fase de contacto influya en los resultados de la reacción, por lo que esta variación consiste en activar la prueba al máximo mediante la adición de una sustancia de carga negativa (tierra de diatomeas, caolín, ácido elágico, etc.) al plasma antes de que se adicione el calcio con el que se dará inicio a la formación del coágulo.⁵⁴

⁵³ BENNETT T, LEHMAN C. Laboratory hemostasis, pág. 175

⁵⁴ *Vid.* nota 42

Finalidad:

- Sirve para detectar anomalías en la vía intrínseca de la coagulación, como son los factores necesarios para la formación del activador intrínseco de la protrombina (los factores VIII, IX, XI y XII).
- La sencillez y reproductibilidad, la hacen muy adecuada para control de la terapéutica anticoagulante por heparina.
- Permite la identificación rápida de hemofílicos en potencia, a fin de poder someterlos a tratamientos preventivos prequirúrgicos y evitar problemas hemorrágicos.
- También detectando deficiencias severas de los factores II, V, X y fibrinógeno, no siendo así con los trastornos plaquetarios, las deficiencias del factor VII ni los problemas vasculares.⁵⁵
- Si cuando se realizan las pruebas de escrutinio únicamente el TP se prolonga se debe sospechar de una deficiencia de Factor VII, pero si ambas pruebas están afectadas (el TTP y el TP) puede deberse a una deficiencia de los factores V, X, II y fibrinógeno (de la vía común).

Factores que influyen en los resultados: El TTPa se prolonga si existe una disminución en la concentración o en la actividad de los factores hemostáticos (de la vía intrínseca y/o común) o si existe algún tipo de anticoagulante.

Las variaciones en la relación anticoagulante/muestra o en la concentración de citrato utilizada afectan los tiempos de tromboplastina parcial, por lo que se recomienda controlar la concentración de anticoagulante empleada al tomar la muestra.

⁵⁵ WIENER LAB – APTTest Manual

- **Tipo de Activador:** Hay diferencias entre las muestras por el tipo de activador que se emplea, es por ello que el personal de laboratorio debe verificar si el reactivo que emplea es capaz de detectar la deficiencia leve, moderada o severa de los Factores (XII, XI, IX, VIII, X, V, II, Fibrinógeno).⁵⁶

Determinación de resultados: Los resultados no deben ser mayores o menores a cinco segundos del TTPa normal. Se debe repetir la prueba por paciente y el duplicado no debe ser mayor o menor a tres segundos. De ocurrir lo contrario repetir el análisis.

Cabe indicar que a diferencia del TP, en este caso no hay índice de estandarización para los resultados del TTPa.⁵⁷

c) **Concentración de Fibrinógeno**

El fibrinógeno es una glicoproteína plasmática sintetizada en el hígado, que interviene en distintos mecanismos hemostáticos (es el factor I de la coagulación) y fisiológicos:

- Es el sustrato de la trombina, última enzima de la cascada de la coagulación, permitiendo la formación del coágulo respectivo.
- Es el sustrato de la plasmina, enzima fibrinolítica.
- Pertenece al grupo de proteínas de fase aguda. En reacciones inflamatorias, aumenta en 24 - 48 horas a niveles muy altos.
- Además de su importante papel en la coagulación, el fibrinógeno es un factor de riesgo para enfermedades coronarias.

Utilidad clínica:

La determinación del fibrinógeno plasmático está ampliamente aceptada como un test de diagnóstico, tratamiento y pronosis de varios trastornos hemorrágicos, como:

⁵⁶ Vid. nota

⁵⁷ Vid. nota 55

- Evaluación de deficiencias congénitas o adquiridas de fibrinógeno (afibrinogenemia, hipofibrinogenemia, etc.).
- Monitoreo de terapia trombolítica.
- Evaluación de concentraciones elevadas de fibrinógeno como un indicador de riesgo para enfermedades vasculares arteriales.

Según la concentración plasmática de fibrinógeno se pueden diferenciar las siguientes situaciones:

- 1- Síntesis disminuida de fibrinógeno: enfermedades hepáticas (cirrosis, perfusión anormal debido a insuficiencia cardíaca).
- 2- Síntesis aumentada de fibrinógeno: en una respuesta de fase aguda (inflamación, tumores, traumas, quemaduras); para compensar pérdidas de proteínas (síndrome nefrótico) y en enfermedades hereditarias: se ha demostrado que el fibrinógeno es un factor de riesgo independiente para enfermedades ateroscleróticas.⁵⁸

Condiciones de muestra: Al ser otra prueba hemostática, las condiciones son exactamente las mismas que las referidas para la realización del TP y del TTPa.

Método: Hoy en día existen diferentes métodos para poder dosificar fibrinógeno plasmático, desde técnicas gravimétricas y turbidimétricas hasta las más modernas y automatizadas como las inmunológicas. Sin embargo uno de los más sencillos y económicos que por el momento aún perdura es el método manual de termoprecipitación, que se puede llevar a cabo con una simple pipeta Wintrobe, una centrifuga y agua caliente. Dicho método tiene como principio a la propiedad del fibrinógeno de coagular a una temperatura de 56°C, mientras que las demás proteínas plasmáticas solo lo consiguen por encima de los 60°C.⁵⁹

⁵⁸ WILLIAMS W. BEUTLER E. WAYNE E. Hematología Tomo 1-2, pág. 1368-70

⁶⁰ SILVA M. GARCIA J. Manual del técnico de laboratorio de análisis clínicos, pág. 187

4.1.2. ANTICOAGULANTES

Un anticoagulante es, como su nombre lo indica, una sustancia química que retrasa o impide la coagulación de la sangre, ya sea en el interior de un organismo (In Vivo), en el exterior (In Vitro) o en ambos, bloqueando algún punto la coagulación (neutralizando proteínas como los factores de coagulación u otros elementos, por ejemplo, iones).

4.1.2.1. ANTICOAGULANTES QUIMICOS IN VITRO

Destinados a conservar muestras sanguíneas para su posterior procesamiento dentro de un laboratorio clínico o centro hospitalario.

Características básicas un anticoagulante in-vitro

Hasta el día de hoy, se está en la búsqueda del anticoagulante in-vitro universal, el cual debe cumplir con los siguientes requisitos:

- Su actividad anticoagulante debe darse a bajas concentraciones por un largo período de tiempo
- No alterar la morfología o tamaño de los hematíes y leucocitos.
- No producir hemólisis.
- Evitar al máximo la agregación plaquetaria.
- Mantener los factores de coagulación y otras proteínas plasmáticas en estado de no ser desnaturalizadas.
- Debe disolver fácilmente cuando se mezcle con la sangre
- Mínima interacción en el pH sanguíneo
- No tóxico humano ni ambiental
- De bajo costo
- Ser compatibles con los colorantes y/o reactivos utilizados para las tinciones hematológicas

- Su presentación puede ser líquida o en polvo. Para la determinación de parámetros hematológicos son recomendables los de aspecto sólido, ya que no producen, como los líquidos, dilución de la sangre (la dilución suele implicar una disminución en 1.5-2.5% de los valores medidos)⁶⁰.

Para ser considerados útiles dentro del campo clínico, ya sea para un determinado análisis o para varios, deben cumplir la mayoría de las características mencionadas.⁶¹

Anticoagulantes in-vitro más utilizados

Para clasificar a los agentes antitrombóticos más empleados en los laboratorios clínicos, se puede hacer mención a los mecanismos de acción que emplean, a la presentación que tienen, a los exámenes para los que son útiles, etc., pero ahora sólo se citará a aquellos involucrados en la investigación que se presenta:

a) Ácido Etilendiaminotetrácetico (EDTA)

Sustancia química aminopolicarboxilada con propiedades quelantes, actualmente recomendada como el anticoagulante de elección para realizar la mayoría de pruebas hematológicas, ya que permite la mejor conservación de los componentes celulares.⁶² Incluso en las últimas décadas, frente a la complejidad presentada por la nueva metodología de los exámenes clínicos, se ha ampliado su espectro de aplicaciones dentro de este campo.⁶³

⁶⁰ ICSH. "Recommendations of the International Council for Standardization in Haematology for ethylenediaminetetraacetic acid anticoagulation of blood for blood cell counting and sizing". American Journal of Clinical Pathology 1993; 100:371-372

⁶¹ Ministerio de Salud del Perú - Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología, 2005. Serie de Normas Técnicas N°40.

⁶² VIVES J., AGUILAR J. Manual de Técnicas de Laboratorio en hematología, pág. 25

⁶³ BANFI G. SALVAGNO G. "The role of ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) as in vitro anticoagulant for diagnostic purposes Clinical Chemical Laboratory Medicine. 2007 45(5):565-576

Presentación

Usualmente comercializado para fines anticoagulantes como sal disódica, dipotásica o tripotásica.

Su presentación física es en polvo, aunque en el mercado también puede encontrarse en estado líquido y más comúnmente en spray seco dentro de tubos vacutainer. Se ha demostrado que no existe diferencia estadística cuando se le usa en tubo de vidrio o plástico⁶⁴.

Tubo vacutainer conteniendo EDTA pulverizado en las paredes



De las sales mencionadas, son las sales de potasio que tienen la ventaja con respecto a la de sodio, por ser más fácilmente solubles en sangre cuando se les usa a partir del producto sólido, sin embargo las 3 sales afectan el tamaño de hematíes después del almacenamiento de la sangre anticoagulada por espacio de algunas horas.⁶⁵

Si bien, el EDTA en cualquier presentación es útil como anticoagulante, es mejor emplearlo en estado seco, para evitar una posible dilución de la muestra. Para ello se debe tener certeza de conseguir una adecuada proporción, de acuerdo a la cantidad de anticoagulante y volumen de sangre a mezclar.⁶⁶ Y en ese sentido, el empleo de tubos al vacío con una cantidad fija de EDTA·K₂ para un volumen determinado de sangre es lo más recomendable.

⁶⁴ MAMDOOH A. Gari “The Comparison of Glass EDTA Versus Plastic EDTA Blood-Drawing Tubes for Complete Blood Count”. Middle-East Journal of Scientific Research 2008; 3: 32-35

⁶⁵ GADDI E. CHIESA M. REMES F. *et al.* Métodos del laboratorio hematológico, pág. 5

⁶⁶ BAIN Bárbara, LEWIS Mitchell. Dacie y Lewis: Hematología clínica, pág. 24

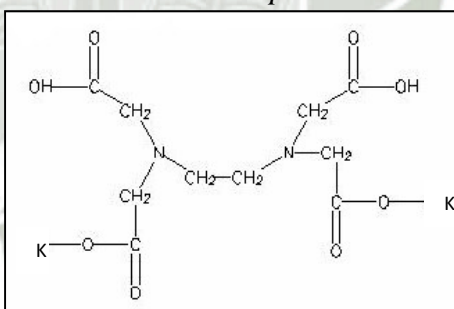
El International Council for Standardization in Hematology (ICSH) y el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCLLS), ahora llamado Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), recomiendan la sal dipotásica del EDTA a concentración de 1,5-2,2 mg/mL, como anticoagulante para recolectar muestras sanguíneas destinadas al recuento y caracterización del tamaño celular y especialmente cuando se requiere para la calibración de los contadores automáticos.⁶⁷

Entre las dos sales potásicas, estudios corroboran que no existe una razón científica para emplear uno por encima del otro, por lo menos demuestran la inexistencia de una diferencia estadística significativa en los resultados de los parámetros que analizan.⁶⁸

El CLSI también indica que puede ser usado en su forma líquida: 10 gramos de EDTA para 100ml de agua destilada, en proporción de una gota de EDTA 10% por cada 4,5ml de sangre.⁶⁹

Estructura química:

Representación de la sal dipotásica de EDTA⁷⁰



Formula: $[CH_2 - N(CH_2 - COOH) - CH_2COOK]_2 \cdot 2H_2O$
Peso Molecular: 404.46 g/mol

⁶⁷ VIVES J., AGUILAR J. Manual de técnicas de laboratorio en hematología, pág. 14

⁶⁸ GOOSSENS W, VAN DUPPEN V, VERWILGHEN R. "K2-or K3-EDTA: the anticoagulant of choice in haematology?". Clinical Lab Haematology 1991;13: 291-295

⁶⁹ GOMES O. Raimundo, *Op. cit.*, pág. 217

⁷⁰ CICHANOWSKI Tommy. The EDTA Story: Using Disodium EDTA as an Anionic Surfactant 2012, en: [<http://customers.hbci.com/~wenonah/riddick/edta.htm>]

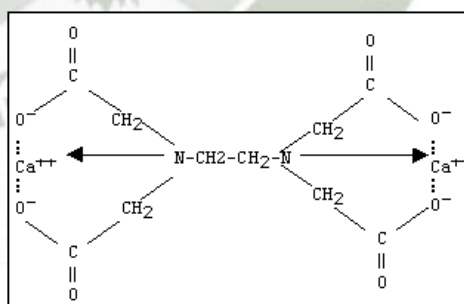
Mecanismo de Acción:

El EDTA, como sal sódica o potásica, puede coordinar metales por cuatro posiciones acetato y dos amino, es decir que tiene la capacidad para potencialmente donar sus seis pares de electrones para la formación de enlaces covalentes coordinados con cationes metálicos, lo que hace al EDTA un ligando hexadentado que al coordinar un catión forme un quelato con geometría molecular octaédrica.

La fuerza de la ligazón entre los iones metálicos y los ligandos es semejante para un gran número de agentes quelantes, por ejemplo, para la serie de los metales alcalinotérreos el orden de estabilidad de los quelatos de EDTA es: Ba < Sr < Mg < Ca, es decir que los quelatos de Calcio son usualmente más estables.

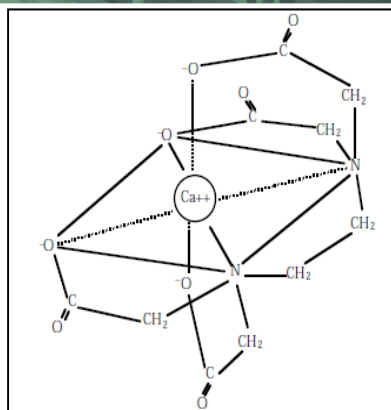
Específicamente, su papel como anticoagulante lo desarrolla a través de éste efecto quelante sobre el ion calcio (Ca^{2+}) sanguíneo, secuestrándolo y separándolo de la cascada de la coagulación, impidiendo la formación de complejos procoagulantes en los que este ion participa.

Representación del complejo EDTA-calcio⁷¹



El calcio sanguíneo es retenido por tres lados del anillo (las flechas representan las ligaduras de coordinación).

⁷¹ FREY M. DE TULLIO L. "Impacto ambiental de productos químicos auxiliares usados en la industria textil argentina" Proyecto de la CEPIS/OPS, 1998.



Quelación del calcio por el EDTA mediante coordinación octaédrica

Para la mayoría de los propósitos que tiene el EDTA se puede considerar que la formación de los complejos con cationes metálicos es completa y estable, porque la constante de formación para los complejos metálicos con EDTA es muy alta.

Aplicaciones en Laboratorio Clínico

Es el anticoagulante con más utilidad dentro del laboratorio, a través del él, puede realizarse: la citometría hemática completa, hemoglobina total y glicosilada, velocidad de eritrosedimentación, recuento de células sanguíneas (eritrocitos, leucocitos, plaquetas, eosinófilos, neutrófilos, basófilos), tipificación sanguínea, etc.

Ventajas

- Respeto la morfología eritrocitaria (especialmente la sal tripotásica), leucocitaria y plaquetaria. De manera que permite una demora de hasta 3 horas en la realización del frotis sanguíneo después de la extracción sanguínea, y sin evidencias de hemólisis hasta los 8 días de conservación.
- El recuento globular, la hemoglobina, reticulocitos, plaquetas y hematocrito, no muestran variaciones por 24 y 48 horas en sangres mantenidas al ambiente y en refrigerador respectivamente.⁷²

⁷² WIKIPEDIA. Acido etilendiaminotetracético 2012, en:
[http://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_etilendiaminotetraac%C3%A9tico]

- Parte de su mecanismo involucra que el EDTA al ponerse en contacto con las plaquetas, por la eliminación el exceso de calcio iónico de la membrana plaquetaria, permiten que éstas se tornen más redondas disminuyendo sus pseudópodos y reduciendo su tendencia a la adhesividad, facilitando su recuento o su expresión semicuantitativa a partir del frotis.⁷³

Prueba	Tiempo máximo de conservación (h)	Temperatura (°C)	Anticoagulante
Recuento de eritrocitos	48	4	EDTA
	24	25	EDTA
Hemoglobina	48	4	EDTA
	24	25	EDTA
Hematócrito	48	4	EDTA
	24	25	EDTA
Índices eritrocitarios (VCM, HCM y CCMH)	24	4	EDTA
	8	25	EDTA
Recuento de leucocitos	24	4	EDTA
	8	25	EDTA
Fórmula leucocitaria	8	4	EDTA
	4	25	EDTA
Recuento de eosinófilos	4	4	EDTA
	2	25	EDTA
Recuento de plaquetas	8	4	EDTA
	4	25	EDTA
Eritrosedimentación	4-5	25	Citrato
Pruebas de hemólisis	2	25	Heparina

CCMH, concentración corpuscular media de hemoglobina; EDTA, ácido etilendiaminetetraacético; HCM, hemoglobina corpuscular media; VCM, volumen corpuscular medio.

Tiempo máximo de conservación de la sangre total para la realización de las pruebas hematológicas con EDTA⁷⁴

Desventajas

- La variación de la proporción anticoagulante:muestra afecta adversamente a los eritrocitos y a los leucocitos, a los cuales les produce encogimiento y cambios en su forma, por ello debe cuidarse de agregar la cantidad correcta de sangre al anticoagulante.⁷⁵

⁷³ SCRIBD. Manual de Quelación 2011, en [<http://es.scribd.com/doc/47428539/Manual-de-Quelacion>.]

⁷⁴ VIVES J., AGUILAR J. Manual de Técnicas de Laboratorio en hematología, pág. 25

⁷⁵ BAIN Barbara. Blood cells: a practical guide, pág. 24

- Exceso de EDTA·K₂ causa encogimiento de los hematíes y cambios celulares degenerativos (puede causar la desintegración de plaquetas).⁷⁶
- Un exceso de sangre con relación al EDTA conduce a un inicio de coagulación, y por ello a una eventual formación de microcoágulos, que pueden alterar los resultados.
- En raras ocasiones y en determinadas muestras la aglutinación o satelitismo plaquetario inducido por EDTA hace que los analizadores automáticos informen resultados falsos de recuentos plaquetarios bajos (pseudoplaquetopenia).⁷⁷

Aplicaciones del EDTA en pruebas de hemostasia: Es debido al hecho de que el EDTA tenga una actividad quelante muy potente y que forme un complejo con el Calcio muy estable, la razón por la que no está recomendado para realizar pruebas hemostáticas que involucren formación de coágulo.

Las pruebas hemostáticas basadas en la formación de coágulo requieren de la adición de cantidades específicas de calcio para iniciarse, y debido a que el EDTA puede “secuestrarlo”, es que se le inhabilita para la ejecución de este tipo de análisis.

Además, por el carácter potente que tiene, algunos factores de la coagulación sanguínea pueden verse también afectados, como es el caso del factor VIII que es inestable. De esta manera ningún tipo de EDTA es adecuado como anticoagulante para la mayoría de las muestras para estudios de hemostasia, aunque no quita su utilidad para el recuento de plaquetas.⁷⁸

⁷⁶ GOMES O. Raimundo *Op. cit.*, pág. 217

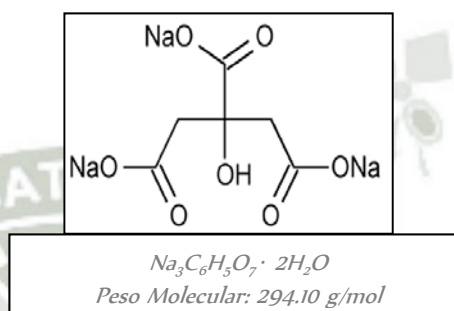
⁷⁷ RODAK Bernadette. *Op. cit.*, pág. 184

⁷⁸ RODAK Bernadette. *Op. cit.*, pág. 728

b) Citrato de Sodio

Compuesto químico que en área clínica, por lo general, hace referencia al ión del citrato unido a tres átomos de sodio: el Citrato trisódico. Es el anticoagulante de selección para muestras en las que se realizan ensayos de coagulación sanguínea.

Fórmula estructural del Citrato de Sodio



Presentación

Su presentación típica es líquida. En la actualidad se comercializa como citrato tamponado (citrato trisódico y ácido cítrico) porque ayuda a estabilizar el pH del plasma, y así conservar por mayor tiempo los factores de la coagulación.

Se comercializa en sistema al vacío a una concentración de 3.2% (0.109M) y también de 3.8% (0.130M).⁷⁹



Tubo vacutainer conteniendo citrato de sodio tamponado líquido

⁷⁹ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays: 5th ed. 2008 (b).

La concentración de citrato de sodio utilizada como anticoagulante es una variable preanalítica importante porque puede variar el tiempo de coagulación del plasma sanguíneo ya que la cantidad de citrato presente afecta la concentración de calcio utilizada en estas pruebas. A mayor concentración de citrato menor concentración de calcio disponible para promover la formación del coágulo y por lo tanto se obtienen tiempos de coagulación más largos.

Duboscq y Kordich indican que a una concentración de 3.8% de citrato sódico, los valores de Tiempo de Protrombina y Tiempo de Tromboplastina Parcial de personas con tratamiento con anticoagulación oral tienden a alargarse más, esto a diferencia de usar citrato 3.2% que no muestra tal diferencia, aunque para pacientes sanos, señalan que dicha diferencia no es significativa.⁸⁰

Los distintos organismos internacionales de estandarización no fijan una única concentración de citrato de sodio a utilizar: ISTH (Internacional Society of Thrombosis and Haematology) y OMS recomiendan utilizar 109 mM (3,2%) mientras que la CLSI sugiere una concentración entre 109 mM y 130 mM.

Mecanismo de Acción

Actúa impidiendo que el calcio se ionice, formando un quelato no dissociado de citrato de calcio, evitando así la coagulación.⁸¹

Aplicaciones

Principalmente destinado para realizar análisis generales de coagulación (Tiempo de protrombina, tiempo de tromboplastina parcial, tiempo de trombina, determinación de fibrinógeno, otros factores de coagulación), y también recomendado para la velocidad de eritrosedimentación, entre lo más importante.

⁸⁰ DUBOSCQ C. KORDICH L. "Efecto de la concentración de citrato de sodio sobre las pruebas de hemostasia" A. Bioquímica Clínica Latinoamericana 2005; 39 (1): 87-92

⁸¹ GENNARO Alfonso, Remington Farmacia, pág. 1478

Además es útil para realizar análisis que permitan establecer diferentes anomalías trombocíticas, ya que es el principal anticoagulante para determinar con mayor exactitud los parámetros morfológicos plaquetarios, al no alterar su tamaño.⁸²

La proporción de anticoagulante/sangre depende de la prueba que se vaya a realizar:

- Para pruebas de hemostasia se emplea en proporción de 1: 9 (0,5 mL de anticoagulante para 4,5 mL de sangre total o 2.7 ml de sangre+0.3 ml de anticoagulante).
- Para la determinación de los parámetros plaquetarios y la VSG (Velocidad de Sedimentación Global) es 1:4 (0,5 mL de anticoagulante para 2 mL de sangre).⁸³

Preparación y almacenamiento de muestras citratadas para pruebas de coagulación basadas en la formación de coágulo

- La mayoría de las pruebas basadas en la formación de coágulo requiere una muestra de plasma pobre en plaquetas (PPP), esto es plasma con un recuento de plaquetas menor que $10 \times 10^9/L$.⁸⁴

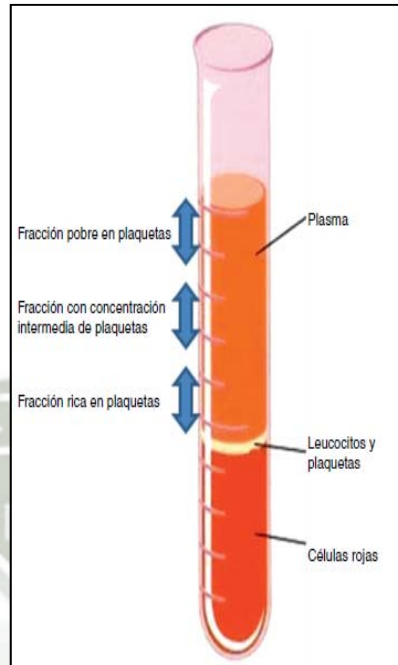
Dicho tipo de plasma se consigue al centrifugar la muestra de sangre a un mínimo de 1500 g durante al menos 15 minutos. Para asegurar su obtención a veces se requiere que el plasma sea centrifugado dos veces. Para ello, se debe transferir el PPP de la primera centrifugación a un tubo de plástico, para después centrifugarlo por segunda vez.

⁸² BATH PHILIP. "The routine measurement of platelet size using sodium citrate alone as the anticoagulant". *Thrombosis and haemostasis*, 1993; 70:687-690.

⁸³ *Vid.* nota 42

⁸⁴ RODAK Bernadette. *Op cit.*, pág. 729

Se debe procurar no utilizar el plasma del fondo del tubo después de la segunda centrifugación, debido a que podría contener plaquetas que puede haberse quedado allí tras la primera centrifugación.⁸⁵



Fases obtenidas tras la centrifugación de sangre anticoagulada

La alta presencia plaquetaria da lugar a que puedan liberar sustancias como fibrinógeno, factores V y VIII acortando el TP, TTPa y cualquiera de las pruebas basadas en el coágulo.⁸⁰

- Las muestras recolectadas con citrato para la pruebas del TP o TTPa pueden mantenerse a 18-24°C o a 2-4°C, y si bien se ha demostrado que las muestras almacenadas a temperatura ambiente pueden presentar resultados estables en la medición del tiempo de protrombina⁸⁶, lo ideal es que deben analizarse dentro de las 4 horas desde el momento de la recolección.

⁸⁵ KITCHEN S, MCCRAW A. Diagnóstico de la hemofilia y otros trastornos de la coagulación, pág. 12

⁸⁶ BAGLIN T, LUDDINGTON R. "Reliability of delayed INR determination: implications for decentralised anticoagulant care with off-site blood sampling". British Journal Haematology 1997; 96:431-4

El calor destruye la actividad del factor VIII de la coagulación. El enfriamiento de 2-4°C estabiliza en parte la actividad del factor VIII, pero puede activar el factor VII y las plaquetas.⁸⁷

- El empleo de cristalería cubierta de silicón, a diferencia del vidrio, no impide la coagulación, sino que la retrasa, impidiendo la activación del factor XII y la adherencia de las plaquetas a las paredes del tubo (retrasando la producción de tromboplastina). El empleo de cristalería tratada con silicón es indispensable en el estudio de los trastornos de la coagulación.

Ventajas

- Las muestras recogidas con citrato en concentraciones entre 110 y 130 mM muestran máxima estabilidad para la determinación de Tiempo de Protrombina hasta 8 horas después de la extracción.
- A cualquiera de las concentraciones señaladas y a 4°C, las sangres conservadas durante 7 días mantienen constante la actividad de los factores lábiles V y VIII.⁸⁸

Desventajas

- El citrato NO puede ser utilizado en conteo celular, ya que produce un efecto degenerativo en leucocitos.⁸⁹
- Las variaciones en la relación anticoagulante:muestra o en la concentración de citrato utilizado pueden afectar el tiempos de Protrombina (a menor cantidad de sangre el tiempo puede resultar prolongado).⁹⁰

⁸⁷ RODAK Bernadette. *Op. cit.*, pág. 728

⁸⁸ WILLIAMS W. BEUTLER E. WAYNE E. *Op. cit.*, pág.

⁸⁹ ALVAREZ C. Jorge, Bioquímica nutricional- metabólica del bovino en el trópico, pág.6

⁹⁰ *Vid.* Nota 44

c) Heparina

Anticoagulante antitrombínico que actúa impidiendo que la protrombina se transforme en trombina, gracias a que forma un complejo con la Antitrombina III (ATIII), acelerando la velocidad de la inhibición del factor X y a la Trombina (porque normalmente la ATIII sola consigue tal inhibición pero de manera lenta).

Ventajas:

Es el anticoagulante recomendado para determinación química en ensayos de muestras sanguíneas dada sus mínimas propiedades quelantes, mínima interferencia con el agua y su relativamente baja concentración de cationes.⁹¹

Desventajas:

- Presenta el inconveniente de que si no se agita rápidamente con la sangre después de extraída pueden formarse microcoágulos, aunque no altera el volumen eritrocitario ni la morfología de los leucocitos.
- No útil para muestras que van a ser examinadas al microscopio luego de tinción con colorante Wright, ya que altera notablemente las coloraciones obtenidas (produce un fondo azul en la lámina).
- El hecho de que inhiba a la trombina y los factores XII, XI, X y IX no la hace adecuada para los test de coagulación.⁹²

d) Oxalatos

d.1) Oxalato de amonio y potasio (Anticoagulante de Wintrobe)

Mezcla de sustancias que actúa por precipitación del calcio.

⁹¹ VIVES Joan, AGUILAR Josep. Manual de Técnicas de Laboratorio Hematología, pág. 27

⁹² GENNARO Alfonso, *Op cit.*, pág. 1477

La sal de amonio aumenta el volumen de los eritrocitos y la de potasio lo disminuye. Con la proporción adecuada (2:1), los eritrocitos no se alteran. La cantidad recomendada es de 2 mg/mL de sangre.

Ventajas:

Es de fácil preparación y no requiere dilución. No afecta la VSG y puede usarse para determinaciones de hemoglobina, hematocrito y recuento globular.

Desventajas:

- Para los extendidos, su función queda limitada a los primeros minutos, pues altera sensiblemente la morfología de los granulocitos (degeneración nuclear) y eritrocitos, además puede hacer variar impredeciblemente el VCM.
- Tampoco es útil para el recuento plaquetario porque produce formación de agregados plaquetarios.⁹³
- Por el efecto contractor que tiene sobre los hematíes disminuye el hematocrito en un 10%.⁹⁴

d.2) Oxalato sódico

Anticoagulante líquido. Recomendado para las pruebas de hemostasia, aunque a diferencia del citrato no conserva tan bien los factores de la coagulación (el factor V se deteriora más rápidamente, alargando el tiempo de protrombina).⁹⁵

⁹³ LYNCH Matthew, *Op. cit.*, pág 706

⁹⁴ ALVAREZ C. Jorge, Bioquímica nutricional y metabólica del bovino en el trópico, pág.7

⁹⁵ RUIZ B. Eliseo. "Valoración del citrato dextrosa fosfato como anticoagulante para efectuar la biometría hemática". *Rev mexicana de Patología Clínica* 1995; 42(3): 119-121.

4.1.3. NEO-ANTICOAGULANTES

El desarrollo de las pruebas clínicas de laboratorio, en la última década, cambió muy rápidamente del uso de instrumentación tradicional a la aplicación de una sistematización generalizada. Es así que los laboratorios se enfrentan a situaciones muy críticas debido a dificultades financieras. La eficiencia es ahora un problema muy importante para el laboratorio moderno, y el desarrollo de un nuevo anticoagulante es esencial para un tratamiento preciso y rápido de un gran número de muestras.⁹⁶

Entre las evaluaciones clínicas realizadas a diferentes compuestos cuando fueron testeados como anticoagulantes, se encuentran estudios hematológicos tales como hematología completa, tiempos de coagulación o ambos parámetros, y en todos los casos se utilizan EDTA y citrato de sodio como controles.

Los resultados de estas investigaciones revelan que los valores obtenidos de hemoglobina, hematocrito, recuento de glóbulos blancos y rojos, volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM), concentración de hemoglobina corpuscular media (CHMC), fórmula leucocitaria diferencial y morfología de las células sanguíneas de la mayoría de los especímenes tratados con estos anticoagulantes, fueron similares a los hallados cuando se utilizó EDTA. No obstante, el recuento plaquetario en algunos de los casos fue más bajo debido a la agregación plaquetaria causada por los anticoagulantes bajo estudio. Asimismo, se encontró que en la mayoría de los casos donde se evaluó el efecto del anticoagulante sobre los tiempos de coagulación, estos resultaron afectados.

Entre alguna de las sustancias evaluadas para su uso como anticoagulantes in-vitro se menciona a las siguientes, con sus respectivas limitaciones:

⁹⁶ NARAYANAN, S. Effects of anticoagulants used at blood specimen collection on clinical test results. *Rinsho Byori* 1996, 103: 73-91

- a) **Hirudina:** La hirudina recombinante, en proporción 4 mg hirudina/2 ml de sangre, demostró realizar buenos recuentos celulares, incluso de plaquetas, pero su actividad anticoagulante sólo dura menos de 4h, pues luego las muestras se coagulan. Además no se ha determinado su eficacia anticoagulante en análisis de hemostasia.⁹⁷
- b) **Proteasa inhibidora de la vía del factor tisular (TPFI):** Proteína inhibitoria del factor participante de la vía extrínseca de la coagulación. Su actividad anticoagulante es estable por más de 6 horas (a las 24h las muestras almacenadas a 4°C muestran descenso en el número de leucocitos). A una concentración de 1 µL TFPI/ml de sangre. Buena correlación con parámetros evaluados con EDTA, sin embargo no permite un buen recuento de plaquetas (disminuye considerablemente).

No podría emplearse para examinar ninguna de las 2 vías de la coagulación, pues el TP se ve alargado en comparación con muestras citratadas (aproximadamente 8 veces más) y en el caso del TTPa las muestras al entrar en contacto con dicha sustancia exhibían una rápida precipitación de fibrina que otorgaba un aspecto turbio a la muestras.⁹⁸

- c) **Acido Etilenglicoltetracético (EGTA):** Análogo del EDTA y que a una concentración de 1mg de EGTA/1ml de sangre, es compatible con las funciones que cumple para con el análisis automatizado del hemograma, el Tiempo de Protrombina se prolonga ligeramente (aproximadamente entre 6-7 segundos), mientras que no exhibe diferencias significativas en el Tiempo Parcial de Tromboplastina activada comparado con el tiempo de muestras citratadas. Sin embargo su desventaja radica en la agregación plaquetaria que produce, dando recuentos en algunos casos alterados.⁹⁹

⁹⁷ KUMURA T. MASAYUKI H., YAMANE T., “Hirudin as an anticoagulant for both haematology and chemistry test”. *Journal of Automated Methods & Management in Chemistry*, 2000;22(4):109-122

⁹⁸ TSUJI R, TATSUMI N, HINO M, *et al.* “Tissue factor pathway inhibitor as a universal anticoagulant for use in clinical laboratory tests”. *Tohoku Journal Experimental Medicine* 2001; 194(3):165-74.

⁹⁹ MITSUO N., MASAYUKI H., TAKAYUKI T. “Analogues of Ethylenediaminetetraacetic Acid and Sodium Fluoride as Anticoagulants”. *Osaka City Medical Journal* 2000; 46: 71-87.

4.1.4. TRIFOSFATO PENTASODICO (TFPS)

Al igual que las sales de EDTA, existe una gran cantidad de productos que tienen propiedades secuestrantes de iones, aunque no necesariamente son destinados a aplicarlos como anticoagulantes.

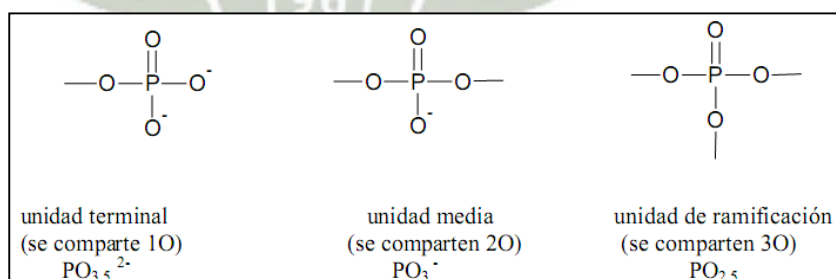
4.1.4.1. Fosfatos

Corresponden a las sales metálicas de los ácidos fosfóricos, donde el ácido ortofosfórico (también conocido como ácido fosfórico) es la forma más estable de fósforo y la más abundante en la naturaleza.

Condensando varias moléculas de ácido ortofosfórico H_3PO_4 , se obtienen los ácidos polifosfóricos, cuyas sales dan lugar al grupo de los Polifosfatos, en el cual se encuentra clasificado el TFPS.¹⁰⁰

La unidad de partida de los polifosfatos es el PO_4^{3-} , presente en el ácido ortofosfórico. Este anión puede considerarse como un átomo de P central rodeado tetraédricamente por 4 átomos de O. Por unión de dos o más tetraedros es que se forman estos polifosfatos.

En ellos puede haber tres tipos de unidades fosfato según compartan uno, dos o tres oxígenos respectivamente:



¹⁰⁰ HUHEEY James, Química Inorgánica, Principios De Estructura Y Reactividad

Distintas combinaciones lineales de estas tres unidades dan origen a todos los polifosfatos. La carga negativa de las unidades terminales y medias se balancea con diversos cationes, formando sales iónicas.

La fórmula general de estos compuestos tiene como base $X_{n+2}P_nO_{3n+1}$ (donde X generalmente es un metal alcalino).¹⁰¹

Sus sales sódicas se utilizan ampliamente como reblandecedores de agua, puesto que consiguen formar complejos solubles con el calcio y otros metales.

4.1.4.2. Concepto General

El trifosfato pentasódico es la sal pentasódica del ácido trifosfórico. Es un polifosfato lineal de fórmula química $Na_5P_3O_{10}$. Su nomenclatura también es reconocida con términos como Tripolifosfato de Sodio (STPP), Tripolifosfato Pentasódico (PSTPP), Trifosfato Pentabásico de Sodio (STPPP).¹⁰²

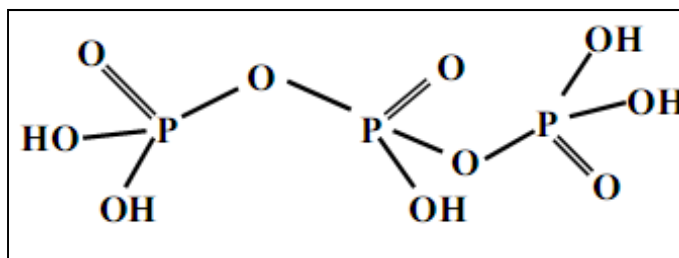
Se produce a gran escala como un coadyugante de muchos productos domésticos e industriales, especialmente detergentes.

4.1.4.3. Estructura Molecular

La unidad básica de todo polifosfato es el anión fosfato PO_4^{3-} , es decir, un fósforo atómico rodeado de cuatro átomos de oxígeno en forma de tetraedro. El TFPS tiene como soporte la unión de 3 tetraedros, una estructura derivada del ácido tripolifosfórico que corresponde al ión tripolifosfato:

¹⁰¹ HOUSECROFT C., SHARPE A., Química Inorgánica, pág. 724

¹⁰² SIGMA-ALDRICH. Sodium tripolyphosphate MSDS. En:
[<http://www.sigmaaldrich.com>]

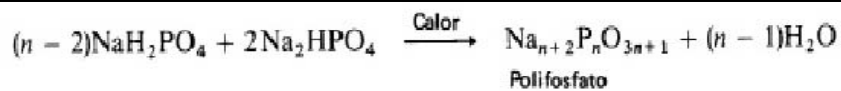


Acido Tripolifosfórico

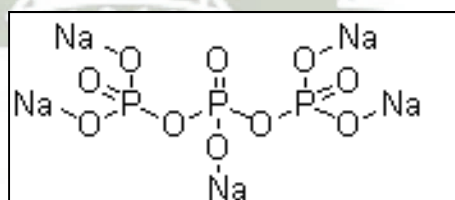


Ión tripolifosfato: Unión de tres iones fosfato (con arreglo tetraédrico), compartidos a través de átomos de oxígeno.

En la preparación de los polifosfatos, se parte, generalmente, de sales sódicas del ácido ortofosfórico:



Lo cual también, manteniendo condiciones de temperatura, tiempo de calentamiento, velocidad de enfriamiento, etc., dan lugar al TFPS.¹⁰³



Estructura molecular del Trifosfato Pentasódico¹⁰⁴

¹⁰³ KREMER E. SIENRA B., Cátedra de Química Inorgánica: Práctica 9 http://dec.fq.edu.uy/catedra_inorganica/inorganica/practica9.pdf

¹⁰⁴ Vid. Nota 102

4.1.4.4. Propiedades Fisicoquímicas

- Posee una estructura cristalina en polvo o gránulos, que presenta un color blanco y es inodoro.
- Tiene un peso molecular de 367,864 g / mol.
- Su estructura química, le permite, a pesar de su relativamente alto peso molecular ser altamente soluble en agua.¹⁰⁵
- Una solución al 1% a 25°C involucra un pH de 9.4-10.2
- Sufre alteración química, cuando se le expone a temperaturas mayores de 650°C.

4.1.4.5. Síntesis Química

Industrialmente es producido por calentamiento de una mezcla estequiométrica de fosfato disódico, Na₂HPO₄ (que proporciona las unidades terminales), y fosfato monosódico, NaH₂PO₄ (que proporciona las unidades medias), bajo condiciones cuidadosamente controladas.



Existiendo otros métodos para su obtención, es de esta manera, que aproximadamente 2 millones de toneladas se producen anualmente, en un grado de pureza técnico (94-95%).¹⁰⁶

¹⁰⁵ TRIPOLIVEN, Tripolifosfato - Hoja de Seguridad. En [<http://www.tripoliven.com>]

¹⁰⁶ WIKIPEDIA ENCYCLOPEDIA. Sodium Triphosphate. En [http://en.wikipedia.org/wiki/Sodium_triphosphate]



Presentaciones del Trifosfato Pentasódico o Tripolifosfato de Sodio

4.1.4.6. Uso y aplicaciones

- Aditivo en detergentes y productos de limpieza

La mayoría de TFPS se consume como componente de detergentes sólidos, jabones y otros productos de limpieza, donde actúa como “builder”. Donde cumple 2 funciones:

- Su principal papel es secuestrar los cationes responsables de la dureza del agua (Ca^{+2} y Mg^{+2}) formando con ellos complejos solubles. Esto evita que se formen espumas insolubles en el agua y permite que los tensioactivos trabajen más eficazmente impidiendo que la suciedad vuelva a depositarse.
- Actúa como AMORTIGUADOR porque los extremos del ion tripolifosfato atraen débilmente el ion hidrógeno disociado, aumentando el pH del agua haciendo que el agua del lavado sea alcalina para favorecer el efecto detergente.¹⁰⁷

¹⁰⁷ Vid. Nota 105

- Aplicaciones alimentarias

Es usado como conservante de humedad, principalmente aplicado en carnes procesadas, alimentos del mar (enlatados), embutidos, en alimentos marinados de pollo (pollo procesado), sopas deshidratadas, pastas alimenticias, bebidas frutales, productos lácteos, etc.

Todo esto gracias a que los aniones fosfatos actúan como polielectrolitos para aumentar la fuerza iónica. Añadirlos causará un aumento en la retención del agua por el enlace directo del agua con los aniones de fosfato y por la repulsión de los grupos de proteína debido al aumento y predominio de cargas negativas en tales grupos.

Estos efectos de repulsión abren la estructura de la proteína, y aumentan el número de sitios disponibles para enlazar agua, lo cual permite que se contenga más de ésta en la carne. Hay evidencias de que también reducen la rancidez oxidativa, probablemente reduciendo la actividad pro-oxidante de metales pesados en la sal.

Los polifosfatos ayudan a solubilizar las proteínas musculares y a disminuir la acidez (elevan el pH) de la carne, lo cual incrementa el espacio alrededor de las proteínas y así mayor cantidad de agua puede mantenerse entre las proteínas. Sin embargo, algunos investigadores sugieren que los fosfatos pueden sólo afectar a los cationes libres (no tienen efecto en cationes que ya estén ligados a las proteínas del músculo).¹⁰⁸

La FDA cataloga al TFPS como "sustancia generalmente reconocida como segura".¹⁰⁹

¹⁰⁸ TERESITA BENZZO M. "Determinación objetiva del color en la elaboración de pastas modelo de embutidos crudo-curados". [tesis para optar Magíster en tecnología de alimentos]. Argentina: Universidad Nacional del Litoral; 2005

¹⁰⁹US FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Sodium tripolyphosphate. En: [<http://www.accessdata.fda.gov>]

- **Otros usos**

Se utiliza en la pintura como dispersante de pigmentos. En cerámica, usado para ayudar a dispersar a la arcilla. Es, además, se ha utilizado como un agente de curtido en la fabricación de cuero y los minerales en el cemento se han sabido para ser tratados de la misma. A veces el TFPS también se ha llegado a utilizar como aditivo en la pasta de dientes, debido a su acción de limpieza.¹¹⁰

- **Aplicación como Anticoagulante en Industria**

Es a través de estudios que se intentó, en un principio, evaluar la propiedad anticoagulante de algunos fosfatos, dentro de ellos el Trifosfato pentasódico, para determinar su posible utilidad en la preservación de la sangre animal obtenida en los mataderos y para la posterior obtención del plasma, que por medio de un adecuado tratamiento se convierte en un producto comercial muy solicitado.

Dichos estudios demostraron que el TFPS resulta eficaz como anticoagulante para los fines especificados, por lo que actualmente es uno de los fosfatos más requeridos para ello.¹¹¹

4.1.4.7. Efecto anticoagulante clínico in-vitro

A partir de su aplicación demostrada como anticoagulante en la industria alimentaria (Archile y cols 1995), Rangel y cols. tuvieron la idea de aprovechar la capacidad secuestrante del TFPS para examinar su propiedad anticoagulante en el campo clínico como un instrumento para la obtención y procesamiento de muestra hematológicas.

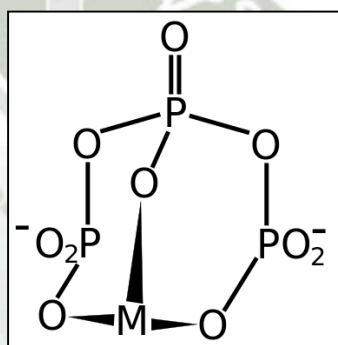
¹¹⁰ Vid. Nota 105

¹¹¹ ARCHILE A. CASTEJON O. RANGEL L. "Utilización del tripolifosfato como anticoagulante y su efecto sobre las propiedades emulsificantes del plasma". Revista Científica FCV-LUZ 1995; 5:111-116

El proyecto en mención, determinó que el TFPS una concentración del 5% exhibe un comportamiento muy similar al de la sal dipotásica del ácido etilendiaminotetracético cuando se le emplea como anticoagulante de muestras sanguíneas para su uso en diferentes pruebas clínicas.¹¹²

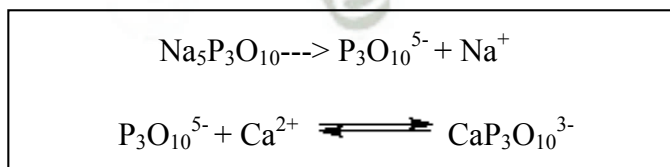
Mecanismo de acción

El TFPS al disolverse, desprende los iones sodio, quedando el anión tripolifosfato en solución, dicho anión puede formar iones solubles por su unión con los cationes metálicos (en este caso calcio), es decir cuenta con propiedad secuestrante, pudiendo hacerlo en 2 o 3 posiciones (es un ligando bi o tridentado).



Quelación del catión metálico por la molécula de trifosfato¹¹³

Entonces es el poder quelante de este ión, sumado a su carga altamente negativa, que al reaccionar con el calcio, impide que éste intervenga en el proceso de coagulación de la sangre.



¹¹² RANGEL L. QUINTERO M. ARCHILE A. et al. Evaluación de un nuevo anticoagulante para pruebas hematológicas de rutina. Revista Cubana Hematología, Inmunología, Hemoterapia 2009; 25(2): 34-44

¹¹³ Vid. Nota 107

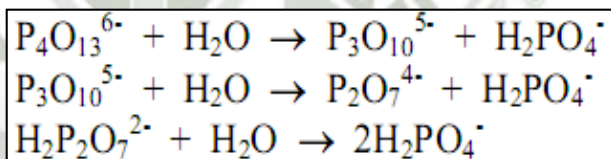
4.1.4.8. Estabilidad

El TFPS, al igual que otros polifosfatos, es estable a temperatura ambiental, pudiendo alterarse a temperaturas muy elevadas o en condiciones de elevada humedad, por su carácter higroscópico.

Estabilidad en solución acuosa

En solución acuosa la mayoría de polifosfatos son termodinámicamente inestables respecto a su transformación en ortofosfatos. Sin embargo la velocidad de las transformaciones es muy variable. El proceso de depolimerización (ruptura del polímero) puede durar meses, según las condiciones.

Los polifosfatos se degradan por desprendimiento de unidades terminales:



La lentitud de estas reacciones permite disolver estas sales o sus respectivos ácidos en agua sin que se aprecien cambios visibles en sus estructuras, por lo menos a corto plazo.¹¹⁴

4.1.4.9. Toxicidad

- Seguridad Humana

Como se mencionó anteriormente, la FDA cataloga al TFPS como "sustancia generalmente reconocida como segura".

La DL50 tras la administración oral es >1000 mg / kg de peso corporal. Del mismo modo, no tiene efectos mutagénicos o carcinogénicos ni efectos reproductivos se han observado.

¹¹⁴ SHRIVER D. ATKINS P. LANGFORD C., Química Inorgánica, pág. 305

Pero hay que aclarar que las sales de polifosfato son moderadamente irritantes para la piel y la membrana mucosa, ya que son ligeramente alcalinas, por lo que no debe existir la exposición directa.¹¹⁵

- Seguridad Ambiental

El TFPS, al igual que otros fosfatos que se han venido utilizando en las formulaciones de detergentes desde los años 30, cuando es utilizado en exceso provoca un efecto poco beneficioso en el medio ambiente porque puede acelerar el proceso de eutrofización o eutrofización de las aguas de lagos y ríos.

Una vez que esta sustancia, forma parte de las aguas residuales de tipo doméstico, se hidroliza fácilmente en ortofosfatos, que es el responsable del aumento y proliferación de algas que provocan enturbiamiento del agua, impidiendo que la luz solar penetre, agotando así el oxígeno por la falta de fotosíntesis, y esto trae como consecuencia la mortandad de peces.¹¹⁶ Además generan otros inconvenientes, que es la acumulación en el fondo de los lagos y ríos de la materia en descomposición (que consume oxígeno y genera mayores condiciones anaeróbicas), produciéndose así lo que se llama Lago Eutrófico (aquel de poca profundidad y sin oxígeno).

4.2. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

4.2.1. Antecedentes Nacionales

No existen, hasta la fecha actual, trabajos de investigación hechos dentro del Perú referentes al tema en estudio.

¹¹⁵ Vid. Nota 103

¹¹⁶ GUERRERO G. Sofía, “Estudio de surfactantes y su implicancia en el proceso de obtención de agua potable en la planta de SEDAPAL-la Atarjea” XXVIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental México 27-31 octubre 2002

4.2.2. Antecedentes Internacionales

- **Evaluación del tripolifosfato de sodio como anticoagulante en determinaciones hematológicas. (2005)**

Autor: Lisbeth Rangel y cols.

El objetivo del estudio fue evaluar un tipo de fosfato como anticoagulante en pruebas hematológicas de rutina. La sangre venosa procedente de hombres y mujeres aparentemente sanos fueron anticoaguladas con solución de tripolifosfato al 2, 3, 4 y 5% para hallar la concentración mínima a la que este compuesto inhibe la coagulación sanguínea. Se utilizó sales disódicas de EDTA a las mismas concentraciones como patrón de comparación. Los parámetros hematológicos determinados fueron: Hemoglobina, Recuento Eritrocitario, Leucocitario y Plaquetario, Hematocrito, VCM, HCM, CHBM, empleando para ello, un analizador hematológico automatizado, Cell Dyn 1700. Los resultados mostraron que para evitar la coagulación es necesaria una concentración mínima de 3% del tripolifosfato y que los valores de todos los parámetros evaluados en sangres tratadas con esa sustancia al 3, 4 y 5% fueron similares a los obtenidos con sangre anticoagulada con EDTA•Na₂ a la misma concentración.

- **Utilidad del Tripolifosfato de Sodio en la tipificación de grupos sanguíneos y factor Rh en escolares. (2007)**

Autor: Maczy Gonzales y cols.

El objetivo fue determinar la utilidad del Tripolifosfato de Sodio a una concentración 5% en la tipificación de grupos sanguíneos y factor Rh en escolares. El universo de estudio estuvo conformado por un grupo de 100 escolares mayores de 12 años, de ambos sexos a los cuales se les determinó el grupo sanguíneo y factor Rh por el método de aglutinación en tubo. Se obtuvo un 100% de correlación en ambas determinaciones (con Tripolifosfato y sin anticoagulante) por lo que no se hallaron diferencias estadísticamente significativas con una ($p < 0,00001$).

- **Evaluación del tripolifosfato de sodio como anticoagulante en determinaciones hematológicas en seres humanos (2009)**

Autor: Lisbeth Rangel y cols.

El propósito fue evaluar la utilidad del tripolifosfato de sodio (TPF) como anticoagulante en diferentes determinaciones hematológicas en seres humanos. Muestras de sangre venosa procedentes de adultos sanos de ambos sexos fueron anticoaguladas con TPF a una concentración del 5%, sales dipotásicas del ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y citrato de sodio. 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 los otros anticoagulantes. Los resultados muestran que es posible la utilización del TPF para la determinación de los parámetros de hematología completa y tiempos de coagulación, permitiendo el uso de una sola muestra con menos volumen sanguíneo, lo cual resultaría beneficioso para los pacientes en quienes la extracción de importantes volúmenes de sangre es en ocasiones difícil y molesta.

- **Estudio comparativo de los parámetros hematológicos de pacientes con leucemia mieloide crónica en muestras tratadas con tripolifosfato de sodio y con ácido etilendiaminotetraacético (2010)**

Autor: Lisbeth Rangel y cols.

El objetivo fue evaluar comparativamente los parámetros de las pruebas hematológicas de rutina de sangre tratada con TFPS y EDTA dipotásico en pacientes con Leucemia Mieloide Crónica (LMC).

Se extrajeron 5 mL de sangre venosa de pacientes adultos de ambos sexos con diagnóstico de LMC, anticoagulada con solución de TFPS al 5% (grupo de estudio) y 5 mL anticoagulada con EDTA (grupo control), para la determinación de los siguientes parámetros hematológicos: hemoglobina, hematocrito, recuento eritrocitario, leucocitario y plaquetario, y las 3 constantes corpusculares, para lo cual se empleó un equipo Cell Master 750 Hematology Analyzer (London Diagnostics Inc).

Se hizo un análisis comparativo de los parámetros hematológicos de ambos grupos, utilizando prueba no paramétrica (“t” de Student), se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativa a una $p < 0,05$ entre las muestras evaluadas. No se detectaron muestras coaguladas. Todos los parámetros hematológicos analizados de sangre tratada con TFPS fueron similares a los obtenidos con sangre anticoagulada con EDTA ($p=0,41$). No se evidenciaron diferencias morfológicas relevantes intraobservador ni interobservador en la imagen de serie roja, plaquetaria ni blanca tanto en células maduras (neutrófilos, linfocitos, eosinófilos, basófilos, monocitos) como inmaduras (blastos, mielocitos, promielocitos, metamielocitos, cayados) entre la sangre obtenida con TFPS y el grupo control con EDTA.





CAPITULO II

PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

II. PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

1. CAMPO DE VERIFICACIÓN

1.1. AMBITO ESPACIAL

Ámbito general: Arequipa

Ámbito específico: Las instalaciones del Laboratorio Clínico Llerena Ames E.I.R.L.

1.2. UBICACIÓN TEMPORAL

a) Cronología

La investigación ha sido efectuada entre los meses de marzo y octubre del año 2012.

b) Visión temporal

La investigación es prospectiva.

1.3. POBLACION O UNIDADES DE ESTUDIO

a) Universo de trabajo

Pacientes que acudieron al Laboratorio Clínico Llerena Ames por diversas causas a realizarse exámenes hematológicos.

b) Identificación de los grupos

Grupo de estudio: Muestras de sangre venosa anticoaguladas con Trifosfato pentasódico de grado técnico al 5%.

Grupo control: Muestras de sangre venosa anticoaguladas con EDTA Dipotásico ($\text{EDTA}\cdot\text{K}_2$) al 10% y Citrato de Sodio 3.2%.

c) Criterios de igualación de los grupos

c.1) Criterios de inclusión

Muestras no coaguladas provenientes de todo paciente hombre o mujer con edades comprendidas entre 18-50 años, sin importar estado de salud y en estado de ayuno que asistió al laboratorio clínico Llerena Ames en su horario de atención al público, durante el período comprendido entre los meses de julio y setiembre del año 2012.

c.2) Criterios de exclusión

Muestras coaguladas, que presenten microcoágulos, cuyos plasmas no tengan aspecto límpido o que sean escasos.

d) Distribución y cuantificación de las Unidades

Se trabajó con 200 pacientes atendidos en Laboratorio Llerena Ames, asignados de la siguiente manera:

- Fueron 100 pacientes consignados para el estudio en general (citometría hemática completa manual, velocidad de eritrosedimentación, tiempo de protrombina, tiempo de tromboplastina parcial activada y dosificación de fibrinógeno)

Las muestras provenientes de estos pacientes se distribuyen de la siguiente manera:

- 100 muestras sanguíneas anticoaguladas con $\text{EDTA}\cdot\text{K}_2$
- 100 muestras sanguíneas anticoaguladas con Citrato trisódico
- 100 muestras sanguíneas anticoaguladas con TFPS·GT.

Este grupo posee las siguientes características:

- ❖ Hay 70 varones y 30 mujeres
- ❖ De todos ellos, son 50 personas, las cuales presentan uno o más parámetros clínicos alterados, es decir, que en alguna de las pruebas analizadas dio resultados por encima o debajo de los valores referenciales tomados como “normales” para este estudio.
- Los otros 100 pacientes fueron destinados únicamente para efectuar la evaluación de la citometría hemática completa automatizada.

Las muestras utilizadas se distribuyen de la siguiente manera:

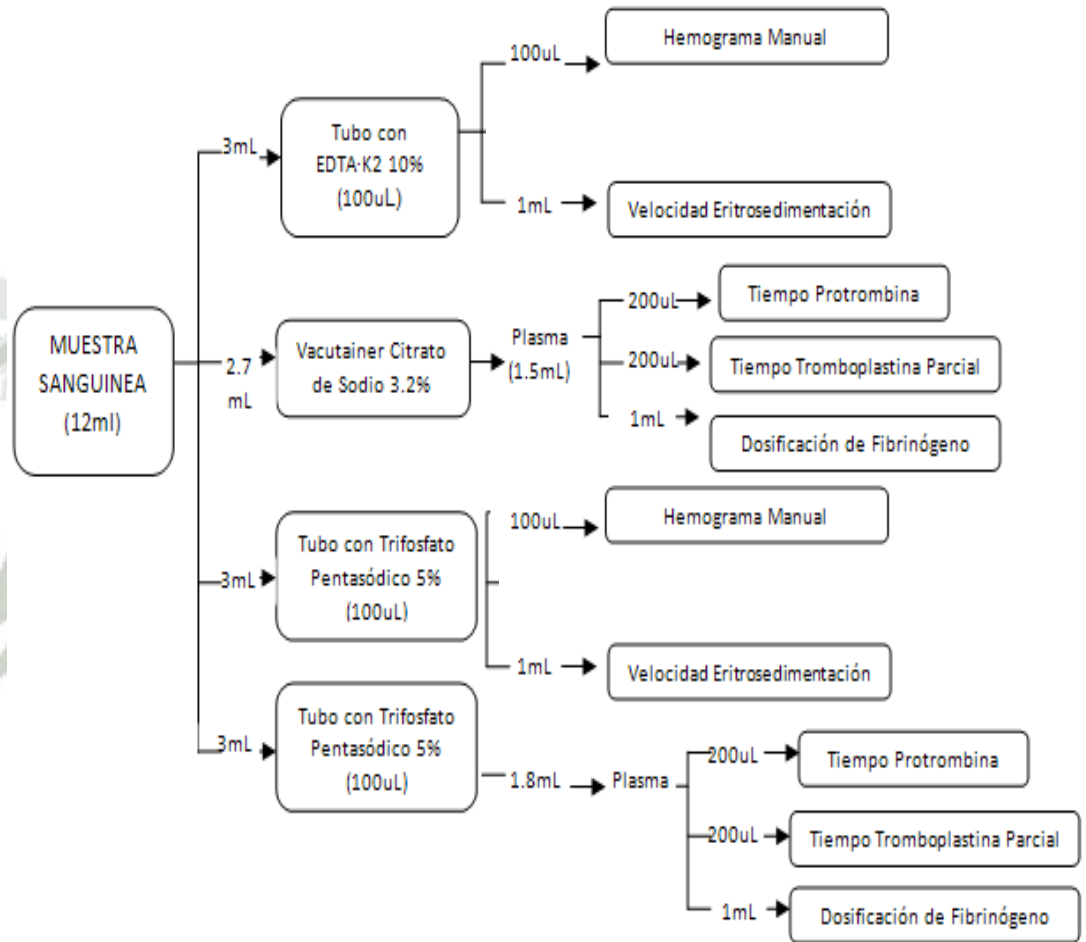
- 100 muestras sanguíneas anticoaguladas con EDTA·K₂
- 100 muestras sanguíneas anticoaguladas con TFPS·GT

Este grupo posee las siguientes características:

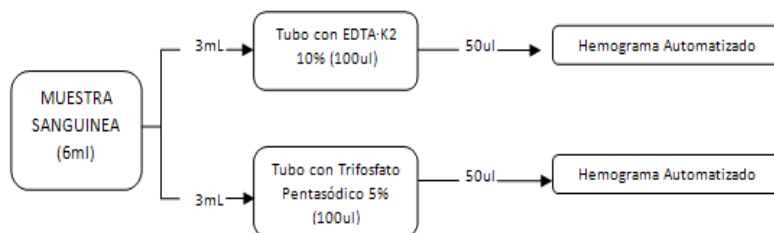
- ❖ Hay 85 varones y 15 mujeres
- ❖ De todos ellos, son 50 personas, las cuales presentan uno o más parámetros clínicos alterados, es decir, que en alguna de las pruebas analizadas dio resultados por encima o debajo de los valores referenciales tomados como “normales” para este estudio.

Esquema de la Distribución de las Muestras

Individualmente la extracción de la muestra sanguínea, de cada paciente, fue repartida de la siguiente manera:



Para las 100 muestras destinadas al análisis de la citometría hemática completa automatizada, la repartición se realizó de la siguiente manera:



2. TECNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACION

2.1. TECNICA

2.1.1. Técnicas de investigación

- Observación Laboratorial In Vitro

2.1.2. Técnicas de ejecución de investigación

a) Obtención y preparación de las unidades de estudio

La recolección de datos consistió en obtener 5 muestras diarias de aproximadamente 12 ml de sangre de adultos en estado de ayuno, previo consentimiento informado, a partir de una venopunción con jeringa y empleando como anticoagulantes el EDTA·K₂, Citrato de Sodio y el TFPS·GT, independientemente.

Para asegurar el mezclado apropiado de la sangre con cada anticoagulante, inmediatamente después de la punción, los tubos de recolección fueron homogenizados por inversión 20 veces. El volumen sanguíneo extraído fue repartido adecuadamente para cada anticoagulante (esquema detallado más adelante).

El TFPS·GT (grado de pureza del 95%) se preparó pesando 5 gramos que se colocaron en una fiola de 100 mL de capacidad, se disolvieron con agua destilada y se enrasó. Diariamente, de la dilución obtenida (almacenada a temperatura ambiente) se tomaron 100 μ L y se colocaron en 10 tubos de ensayo de vidrio 12x75 ubicados en una gradilla. Cada tubo fue rotulado y dispuesto adecuadamente hasta el momento de su uso.

Asimismo adicionados a los 10 tubos rotulados con TFPS·GT, en la misma gradilla, se organizaron 5 tubos de ensayo de vidrio 12x75 conteniendo 100 μ L del anticoagulante líquido EDTA·K₂ (Biolabtest[®]) y además 5 tubos vacutainers de Citrato de Sodio 3.2% (BD Vacutainer[®]) formulados para contener 2,7 ml de sangre. Tanto los tubos con EDTA·K₂, como los vacutainers con Citrato de Sodio fueron adecuadamente rotulados.



Por otra parte los reactivos para desarrollar las pruebas de coagulación elegidas para el estudio fueron reconstituidos según las indicaciones presentadas en sus insertos.

b) Prueba de la Velocidad de Eritrosedimentación

Una vez obtenidas TODAS las muestras requeridas para el día, primero se decidió realizar el examen clínico de la velocidad de eritrosedimentación, para lo cual se hizo uso de los 5 tubos con sangre anticoagulada con TPFS·GT y los 5 con sangre anticoagulada con EDTA·K₂.

Para desarrollar este análisis se aplicó el método de Wintrobe.

Con ayuda de una pipeta Pasteur abierta de vidrio se consiguió introducir aproximadamente un mililitro de cada una de las muestras de sangre mencionadas (previa homogenización), dentro de tubos hematocritos de Wintrobe para completar su capacidad (enrasado hasta 0 milímetros). Se llevó un registro de los milímetros que descienden los hematíes por hora, en un total de 2 tiempos, cada dato fue registrado apropiadamente registrado.



c) Pruebas de Citometría Hemática Completa Manual

Con las mismas muestras utilizadas anteriormente (EDTA·K₂ y TFPS·GT), se llevo a cabo el conjunto de análisis correspondientes a la citometría hemática manual.

c.1) Recuento Diferencial de Leucocitos

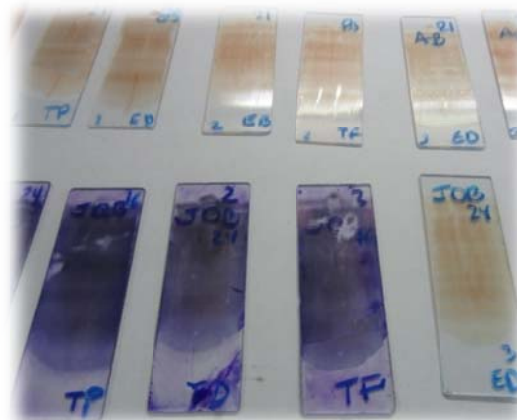
Tras extraer la muestra y distribuirla adecuadamente, una gota de sangre restante fue dispuesta directamente de la aguja sobre una lámina portaobjetos a fin de realizar el extendido sanguíneo correspondiente, para que una vez rotulada, la lámina sea coloreada bajo la metodología de la tinción Wright.

Tinción de Wright: Los frotis sanguíneos se colocaron apropiadamente sobre un puente de tinción de acero y se vertió la solución de Wright (Diagtest®) en cantidad necesaria para cubrir completamente la lámina. Se dejó reposar por 4 minutos para la fijación. Inmediatamente después se añadió igual volumen de tampón fosfato por 10 minutos para desarrollar la coloración propiamente dicha (se comprueba que la proporción de colorante:tampón es apropiada al ver que aparece una película verdosa en la superficie). Al terminar dicho período se lavó la lámina utilizando un chorro lento de agua de grifo, se deja secar al aire en un escurridor vertical y se limpia con una gasa embebida en alcohol el lado no coloreado de la lámina.



Cada lámina fue examinada microscópicamente con el objetivo de inmersión con el propósito de identificar morfológicamente 100 tipos de leucocitos traduciéndolo al porcentaje relativo de cada tipo leucocitario (fórmula leucocitaria).

Hay que aclarar que una vez que los extendidos fueron preparados, no fueron inmediatamente formulados, sino que fueron retenidos para ser evaluados después de llevar a cabo todos los otros análisis propuestos en el estudio.



c.2) Recuento Leucocitario

Para esto previamente se organizaron 10 tubos de ensayo 12x75 con contenido de 200 μ L del reactivo diluyente de Turck (Biolabtest[®]). Posteriormente se aspiró 10 μ L de cada una de las muestras sanguíneas anticoaguladas con TFPS·GT y EDTA·K₂, y se los situó en el interior de los tubos con el diluyente, con ayuda de una pipeta automática, limpiando la parte externa de su punta y lavando el interior de la misma por aspiración y expulsión (dilución 1:20). La mezcla se homogenizó suavemente y 3 minutos después se procedió al llenado de la

cámara Neubauer y al recuento en microscopio óptico (con aumento de 40x) en los 4 cuadrantes grandes laterales de la cámara, teniendo como consenso contar los leucocitos que están sobre las rayas de arriba y la izquierda.



La fórmula empleada:

$$\text{Leucocitos} = L/4 \times 10 \times 20$$

L = Número promedio de leucocitos hallado en 1 cuadrante

10 = ajuste a las unidades de mm^3

20 = factor de dilución



Para casos de leucopenia ligeramente acentuada (recuento menor a 3500 leucocitos) se aplicó una dilución 1:10.

c.3) Determinación de la concentración de Hemoglobina

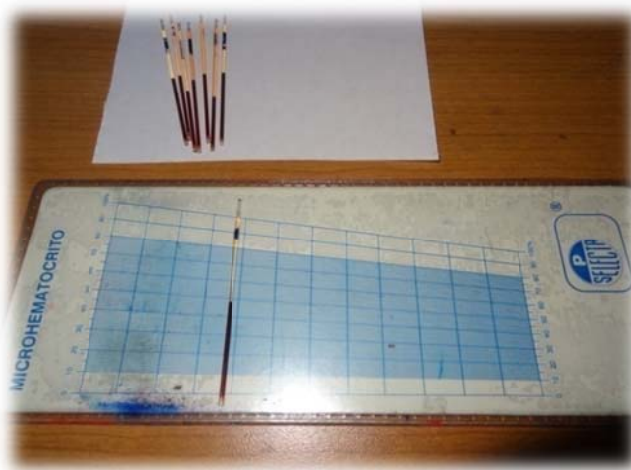
Se recurrió al método de la cianometahemoglobina, para lo cual se prepararon 10 tubos de vidrio 12x75 con 2,5 mL del reactivo Drabkin (Biolabtest®) en cada uno. Seguidamente se pipetearon 10 μ L de cada una de las muestras anticoaguladas con TPFS·GT y EDTA·K₂ para disponerlas en cada uno de los tubos con el reactivo mencionado (limpiando la parte externa de la punta de la micropipeta y lavando su interior por aspiración y expulsión) homogeneizándolas suavemente. Para conseguir estabilizar el complejo formado se dejó reposar la mezcla por 10 minutos a temperatura ambiente. Se determinó la capacidad de absorción del pigmento estabilizado, frente al blanco del reactivo, en el fotocolorímetro (Microlab 200) a 540 nanómetros. Dicho equipo estaba calibrado con curva estándar para realizar la hemoglobinometría, por lo cual no hubo necesidad de emplear reactivos estándar. Para cada muestra se hizo 3 lecturas de la concentración de hemoglobina y se registró el promedio.



c.4) Determinación del Hematocrito

Paralelamente al dosaje de hemoglobina, se llevó a cabo la técnica del microhematocrito, para lo cual se agregó, con ayuda de una micropipeta de 100 μ L, un volumen determinado de cada una de las muestras anticoaguladas con EDTA·K₂ y TFP·GT dentro de capilares de vidrio heparinizados, hasta completar

aproximadamente 2/3 del capilar. Y a continuación cada capilar fue correctamente distribuido dentro de una microcentrífuga (Mixtasel-Selecta) programada a una velocidad de 11000 rpm durante 5 minutos.



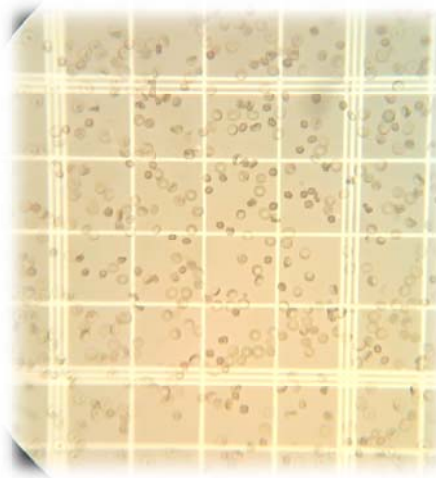
c.5) Recuento eritrocitario

El recuento de hemáties se calculó a través de la siguiente fórmula basada en el valor del hematocrito analizado:

$$\text{Eritrocitos} = (\text{Hematocrito} + 10\% \text{ del Hematocrito}) \times 100\,000$$

Aclarando que su uso estuvo destinado sólo para los casos de muestras que exhibieron un hematocrito normal o aquellas que presentaron una morfología y tamaño eritrocitario normal en el frotis sanguíneo elaborado para la diferenciación leucocitaria.

En casos patológicos, fue un especialista que hizo el recuento bajo la técnica del hemocitómetro. Para lo cual se pipeteó 2ml de solución diluyente (Sol. Formol-Citrato) y se pipeteó 10 μ L de muestra (dilución 1:200). Se cargó en la cámara y se hizo el recuento microscópico en 5 cuadrados del cuadrante de Thoma.



La fórmula empleada:

$$\text{Eritrocitos} = E/80 \times 10 \times 200 \times 400$$

E = Número total de eritrocitos contados en los 5 cuadrados

80 = N° de cuadraditos contados

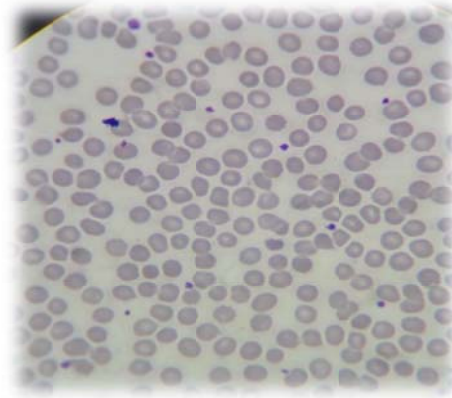
10 = ajuste a las unidades de mm^3

200 = factor de dilución

400 = número total de cuadraditos

c.6) Recuento de plaquetas

Con ayuda de los extendidos sanguíneos coloreados con el reactivo de Wright, se realizó el recuento indirecto de plaquetas, microscópicamente a 100x, correlacionando la proporcionalidad entre el número de eritrocitos y plaquetas por campo, y el número de eritrocitos y plaquetas por mm^3 , haciendo uso de la siguiente fórmula:



Plaquetas = (Nº de plaquetas medio en 10 campos) x (Nº de eritrocitos total) / Nº de eritrocitos medio en 10 campos

Para el caso de muestras plaquetopénicas (recuento menor a 150000 plaquetas/ μ L) se realizó un recuento directo en hemocitómetro de Neubauer, aplicando una dilución 1:10 de las muestras (con solución de oxalato amónico al 1%), reposando por 10 minutos, cargándola a la Cámara en ambiente húmedo por 10 minutos y haciendo una lectura microscópica a 40x del número de plaquetas observadas en los 5 cuadrados del cuadrante de Thoma.

La fórmula aplicada fue:

$$\text{Plaquetas} = \frac{P \times 10 \times 400}{80 \times 0.1}$$

P = Nº total de plaquetas en los 5 cuadrados

10 = factor de dilución

400 = Nº de los cuadraditos totales

80 = Nº de cuadraditos contados

0.1 = Volumen total del cuadrante 0.1mm³

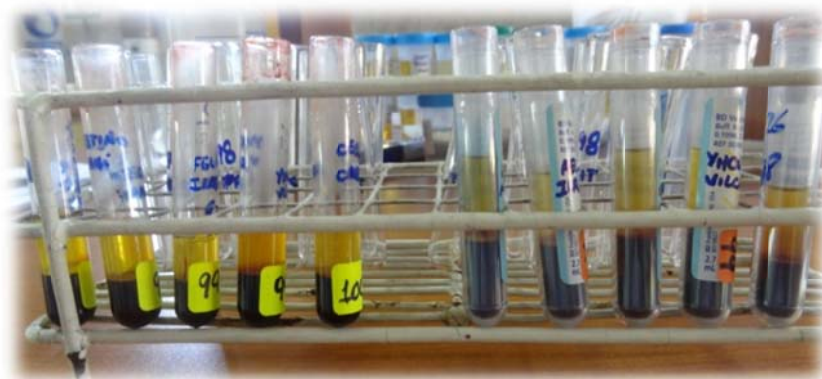
- Diariamente, todos los resultados de las pruebas descritas hasta este punto fueron adecuadamente almacenados como “resultados de la

citometría hemática manual a la HORA CERO”. Se repitió el mismo procedimiento para toda la citometría, pasadas 6, 12 y 24 horas, registrando los resultados de acuerdo a dichos intervalos. Aclarar que para el análisis de las 12 y 24 horas, las sangres anticoaguladas con EDTA·K₂ y TFPS·GT fueron conservadas a 4°C.

d) Pruebas de Coagulación Sanguínea

Para este segmento, las muestras obtenidas con TFPS y con Citrato de Sodio fueron sometidas a centrifugación (4200 rpm por 5 minutos) para la extracción del plasma correspondiente, necesario para desarrollar las 3 pruebas hemostáticas en estudio.

Cada plasma fue dispuesto en tubos de vidrio 12x75 y rotulado apropiadamente.



Con previsión de 1 hora previa a este análisis, se atemperó los reactivos correspondientes.

d.1) Tiempo de protrombina

La técnica manejada para este análisis fue Manual.

Para cada muestra se dispuso 200 μ L del reactivo SOLUPLASTIN[®] (tromboplastina) en tubos de ensayo

policarbonados de 12x75 y fueron colocados dentro de una bañera María a 37°C por 5 minutos.

Paralelamente los plasmas procedentes de las sangres enteras también fueron dispuestos en el mismo baño María por 5 minutos.

Pasado el tiempo requerido se agregó 100 μ L del plasma precalentado en uno de los tubos que contenía el reactivo y de manera inmediata se hizo correr un cronómetro y mientras se movía el tubo con la mezcla contenida. Una vez que se observaba el inicio de la formación de un coágulo se anotaba el tiempo recorrido.

El proceso se efectuó por duplicado para cada muestra y se anotó la media de ambas mediciones como resultado.

Indicar además, que antes de llevar a cabo este análisis se decidió elaborar las curvas de calibración del reactivo SOLUPLASTIN (a 5 puntos y con el empleo de un pool de 6 plasmas normales para cada uno) correspondientes a su uso con el anticoagulante Citrato de Sodio y con el TFPS-GT (Curvas detalladas en Anexos), con el propósito de poder equiparar los resultados obtenidos en términos de “segundos”, a través de los valores en términos “porcentuales”.



Dilución	Porcentaje de Actividad	Pool (mL)	NaCl 0.9% (mL)
1:1	100 %	0.5	-
1:2	50 %	0.3	0.3
1:3	33.3 %	0.3	0.6
1:4	25 %	0.2	0.6
1:8	12.5 %	0.2	1.4

d.2) Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada

La técnica manejada para este análisis fue Manual.

Con anterioridad se tenía congelado el reactivo reconstituido APTTEST[®] (cefalina con tierra de diatomeas) en tubos de ensayo 12x75, con una cantidad de 100 μ L en cada uno (según exigencias del fabricante). Estos fueron atemperados 1 hora antes de la prueba.



Se pipeteó 100 μ L de los plasmas procedentes de las sangres enteras y se los vertió en cada tubo con el reactivo APTTest. Se homogenizó cada tubo con ayuda de un agitador shaker (Reax Top[®]) a baja velocidad y evitando la formación de espuma.

Seguidamente los tubos con la mezcla contenida fueron colocados en el Baño María a 37°C por 5 minutos y paralelamente en un tubo de vidrio 12x75 se introdujo 2,2 mL del reactivo Cloruro de calcio 0.025 M, cantidad suficiente para realizar el ensayo para 10 pruebas (por repetido), asimismo fueron llevados al mismo Baño María a 37°C por 5 minutos.

Pasado el tiempo requerido se agregó 100 μ L del Cloruro de calcio precalentado en uno de los tubos que contenía el la mezcla Plasma-Reactivo APTTest y de manera inmediata se hizo correr un cronómetro, mientras se movía el tubo con la mezcla contenida por inclinación (con un ángulo aproximado de 45°). Una vez que se observaba el inicio de la formación de un coágulo se anotaba el tiempo recorrido.



El proceso, en su totalidad, se efectuó por duplicado para cada muestra y se anotó el promedio de ambas mediciones como resultado.

d.3) Dosificación del Fibrinógeno

El método manejado para este análisis fue la precipitación térmica en tubos Wintrobe.

Con ayuda de una pipeta Pasteur abierta se trasladó alrededor de un mililitro de los plasmas separados de cada muestra de sangre anticoagulada con TFPS-GT y Citrato, dentro de tubos hematocrito de Wintrobe hasta enrasar hasta 0 milímetros.

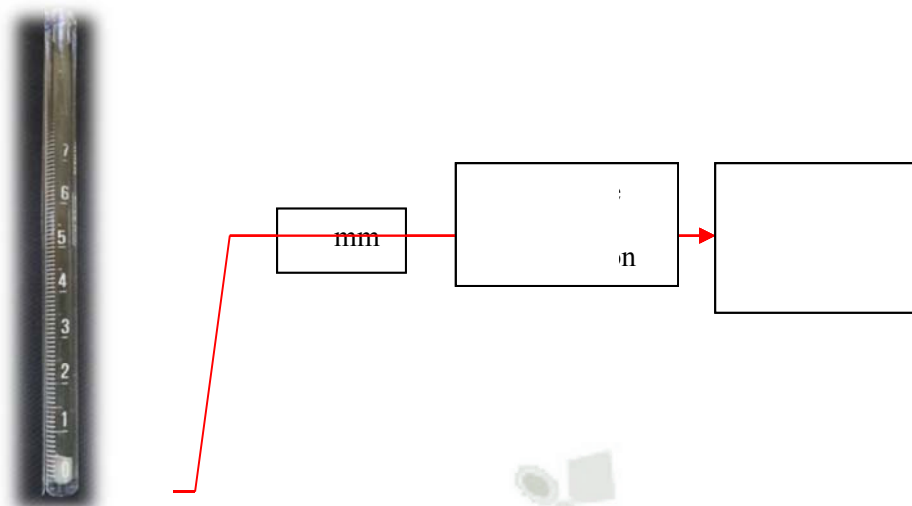
Todos los tubos Wintrobe fueron dispuestos en un termostato a 56°C por 15 minutos. Pasado dicho tiempo, se hizo lectura simple del número de milímetros que ocupaba el fibrinógeno precipitado.



Y finalmente el número de mm obtenido era correlacionado por interpolación con ayuda de una curva estándar (detallada en Anexos) con la concentración de fibrinógeno en mg/dL.



El cálculo se desarrollo de la siguiente manera:



e) Citometría Hemática Automatizada

Como una segunda fase de la investigación, se procedió a extraer nuevamente muestras sanguíneas anticoaguladas con EDTA·K₂ y TFPS·GT (esquema detallado anteriormente), esta vez, con el fin de comparar la utilidad de estas dos sustancias en la realización de la citometría automatizada haciendo uso del equipo SYSMEX Kx-21n.

Cada muestra, previa homogenización (cada tubo de recolección fue mezclado 60 veces por inversión) fue colocada apropiadamente para su respectiva aspiración por el equipo. Tras cada medición se obtuvo el informe impreso con los datos correspondientes. Estos resultados fueron considerados como “resultados de la citometría hemática automatizada a la HORA CERO”. Se repitió el mismo procedimiento pasadas 24 horas (las muestras que fueron almacenadas a 4°C), estableciendo el registro correspondiente de “resultados de citometría hemática automatizada a las 24 HORAS”.



Para asegurar la calidad de los resultados, este estudio se realizó bajo un sistema de control de calidad interno basado en el uso semanal de sangre comercial. Los resultados fueron aceptados en casos que los coeficientes de variación de los parámetros inspeccionados y controles estuvieran dentro de los límites de tolerancia del 10%.

2.1.3. Métodos de evaluación

Una vez culminada la etapa de recolección de datos, todos los resultados han sido distribuidos en hojas de cálculo informáticas y se procedió a su ordenamiento y a la respectiva comparación mediante una adecuada evaluación estadística para demostrar el nivel de diferencia significativa que pueda existir.

2.2. INSTRUMENTOS

Equipos

- Balanza electrónica
- Centrífuga Labofuge 200
- Cronómetros
- Equipo Automatizado Sysmex Kx-21n
- Espectrofotómetro Microlab 200
- Microcentrífuga Mixtasel-Selecta
- Micropipetas Automáticas
- Microscopio Óptico

Instrumental de Vidrio

- Capilares de vidrio heparinizados
- Equipamiento de Extracción Sanguínea
- Hemocitómetros Neubauer con espejo
- Pipetas Pasteur abiertas de vidrio (230mm)
- Tubos de Hematocrito Wintrobe
- Tubos de vidrio PYREX 12x75
- Tubos de policarbonatos 12x75

2.3. MATERIALES

- Anticoagulante EDTA ·K2 10% (BIOLABTEST)
- Colorante Hematológico WRIGHT en solución (BIOLABTEST)
- Diluyente CELLPACK
- Reactivo Drabkin (BIOLABTEST)
- Reactivo SOLUPLASTIN (WIENER)
- Reactivo APTTest (WIENER)

- Solución STROMATOLYSER 4DL (WIENER)
- Solución de Turck (BIOLABTEST)
- Trifosfato Pentasódico grado técnico 95%
- Tubos Vacutainer Citrato Sódico 3.2% (BD VACUTAINER)

3. ESTRATEGIA DE RECOLECCION

3.1. ORGANIZACIÓN

Luego de haber sido aprobado el plan de la presente tesis se tuvo que coordinar ciertas acciones previas:

- Obtención de la autorización y consentimiento del encargado del Laboratorio Clínico Llerena Ames E.I.R.L para desarrollar gran parte de la investigación dentro de sus instalaciones y a través de su clientela diaria.
- Coordinación con profesionales que trabajan en dicha institución para brindar la colaboración respectiva en cuanto al análisis observacional.

3.2. RECURSOS

3.2.1. RECURSOS HUMANOS

Investigador: Paul Michael Bustinza Del Castillo

Asesora: Dra. Yenny López Valencia

3.2.2. RECURSOS FÍSICOS

Infraestructura del Laboratorio Clínico Llerena Ames E.I.R.L.

Biblioteca de la Universidad Católica Santa María

Biblioteca de la Universidad Nacional de San Agustín

3.2.3. RECURSOS ECONÓMICOS

Propios del investigador

3.2.4. RECURSOS INSTITUCIONALES

Universidad Católica de Santa María

Universidad Nacional San Agustín

3.3. VALIDACION DEL INSTRUMENTO

Se realizó mediante una prueba piloto con el fin de determinar la eficacia del instrumento y encontrar posibles errores para así lograr los objetivos propuestos.

4. ESTRATEGIA PARA EL MANEJO DE RESULTADOS

4.1. A NIVEL DE SISTEMATIZACION

4.1.1. PLAN DE PROCESAMIENTO O SISTEMATIZACIÓN

Para el procesamiento de los datos se procedió a tabular los datos recogidos, para luego convertirlos al sistema digital con ayuda del programa Microsoft Office Excel 2010, y así tenerlos disponibles para su posterior análisis estadístico.

4.1.2. PLAN DE OPERACIONES

a) Clasificación

Se realizó a través de una matriz de registro y control, que figura en los anexos de la tesis.

b) Recuento

Se analizó de manera informática, a través de matrices generadas en el paquete estadístico EPI-INFO 6.0 for Windows.

c) Tabulación y Gráficos

Se utilizó cuadros numéricos, presentando los resultados en términos de promedio y desviación estándar.

4.2. A NIVEL DE ESTUDIO DE DATOS**a) Tratamiento estadístico**

Se utilizó diferentes métodos estadísticos para efectuar el análisis más adecuado a fin de esclarecer los distintos objetivos trazados:

- Para el análisis del comportamiento presentado por cada tipo de anticoagulante a través de las diferentes horas de análisis en las pruebas clínicas efectuadas de forma manual se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) de cuatro vías, complementado con el estadístico Tukey.
- Para el análisis del comportamiento presentado por cada tipo de anticoagulante a través de las diferentes horas de análisis en las pruebas clínicas efectuadas de forma automatizada se aplicó el Test t de student para grupos pareados.
- Para comparar los resultados encontrados en cada hora análisis de las pruebas clínicas estudiadas utilizando los anticoagulantes en estudio se usó el Test t de student para grupos no pareados.
- Para investigar la validez diagnóstica de cada una de las pruebas estudiadas se aplicó las reglas ceñidas al empleo de tablas

tetracóricas (2x2), clasificando los resultados como Normales o Patológicos según los valores de referencia considerados.

b) Metodología Interpretativa

Los cuadros fueron interpretados jerarquizando los datos, comparándolos entre sí y apreciándolos críticamente.

c) Operaciones para la interpretación de cuadros

Con apoyo de las pruebas estadísticas mencionadas se aplicó una búsqueda de correlación directa y significativa entre los resultados, cuando se presente una probabilidad aleatoria mayor a 0.05 (nivel de confianza del 95%).

d) Modalidades Interpretativas

Se utilizó una modalidad explicativa, es decir, se hizo una interpretación subsecuente a cada cuadro y una discusión o comentario agregado.

4.3. A NIVEL DE CONCLUSIONES

Se realizó conclusiones de acuerdo a la hipótesis, interrogantes y objetivos planteados en el trabajo de la investigación.

4.4. A NIVEL DE RECOMENDACIONES

a) Forma

Se estableció sugerencias en base a los resultados y a las conclusiones del trabajo de investigación.

b) Orientación

A nivel de ejercicio profesional.

A nivel de la línea de investigación.

A nivel de la aplicación práctica.



CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN



RESULTADOS

En el presente estudio se analizaron muestras de 200 pacientes provenientes del servicio diario que brinda el Laboratorio Clínico particular Llerena Ames E.I.R.L. de la ciudad de Arequipa, durante los meses de junio y septiembre del presente año 2012. A 100 de de las muestras se las obtuvo empleando los anticoagulantes EDTA dipotásico y citrato trisódico (como controles) y Trifosfato pentasódico de grado técnico (anticoagulante en estudio). A cada una de ellas se les determinó citometría hemática manual (recuento leucocitario, eritrocitario, plaquetario, dosificación de hemoglobina, determinación de hematocrito y recuento leucocitario diferencial) a cuatro diferentes intervalos de tiempo (al momento de la extracción, pasadas 6, 12 y 24 horas), velocidad de eritrosedimentación, tiempo de protrombina, tiempo de tromboplastina parcial activada y dosificación de fibrinógeno. Las otras 100 muestras se las obtuvo utilizando EDTA dipotásico y Trifosfato pentasódico de grado técnico, y éstas únicamente estuvieron destinadas para comparar la citometría hemática automatizada (recuento leucocitario, eritrocitario, plaquetario, dosificación de hemoglobina, determinación de hematocrito y recuento leucocitario diferencial) a dos diferentes intervalos de tiempo (al momento de la extracción y pasadas 24 horas). Para cada paciente se registró la edad, sexo, así como los resultados de cada uno de los parámetros clínicos analizados.

CUADRO N° 01

PROMEDIO DE EDADES Y DISTRIBUCION DE LA POBLACION
CLASIFICADOS POR SEXO

SEXO	EDAD (MEDIA)	DESVIACION ESTANDAR	FRECUENCIA	%
Hombres	31,31	8,04	155	77,5
Mujeres	30,91	6,76	45	22,5
TOTAL			200	100

Fuente: Matriz de Datos

El cuadro muestra la distribución de la población total en estudio, de acuerdo a las edades y géneros, observándose que tanto hombres como mujeres presentaron un promedio de edades similares, con una dispersión de datos también parecida y además se expone que existió una mayor participación masculina en la investigación.

CUADRO N°2

**COMPARACION ENTRE EL EDTA DIPOTASICO Y EL TRIFOSFATO
PENTASODICO DE GRADO TECNICO EN EL RECUENTO MANUAL DE
LEUCOCITOS, ERITROCITOS Y PLAQUETAS REALIZADOS A
DIFERENTES HORAS**

	Medición	EDTA Dipotásico		Trifosfato Pentasódico		P
		Media	D.E.	Media	D.E.	
Recuento de Leucocitos (miles/ μ L)	0 Hr.	5.88	1.72	6.23	1.76	0.342 (N.S.)
	6 Hr.	5.90	1.76	6.14	1.75	0.454 (N.S.)
	12 Hr.	5.79	1.73	6.06	1.74	0.685 (N.S.)
	24 Hr.	5.81	1.73	6.02	1.72	0.793 (N.S.)
	P	0.967 (N.S.)		0.824 (N.S.)		
Recuento de Eritrocitos (millones/ μ L)	0 Hr.	5.34	0.68	5.19	0.68	0.687 (N.S.)
	6 Hr.	5.32	0.69	5.18	0.68	0.711 (N.S.)
	12 Hr.	5.29	0.68	5.16	0.69	0.789 (N.S.)
	24 Hr.	5.28	0.69	5.14	0.68	0.807 (N.S.)
	P	0.930 (N.S.)		0.974 (N.S.)		
Recuento de Plaquetas (miles/ μ L)	0 Hr.	235.58	56.02	234.07	57.27	0.473 (N.S.)
	6 Hr.	231.70	58.06	233.19	55.44	0.211 (N.S.)
	12 Hr.	227.72	56.07	224.61	56.41	0.196 (N.S.)
	24 Hr.	227.47	56.01	220.31	56.20	0.074 (N.S.)
	P	0.711 (N.S.)		0.239 (N.S.)		

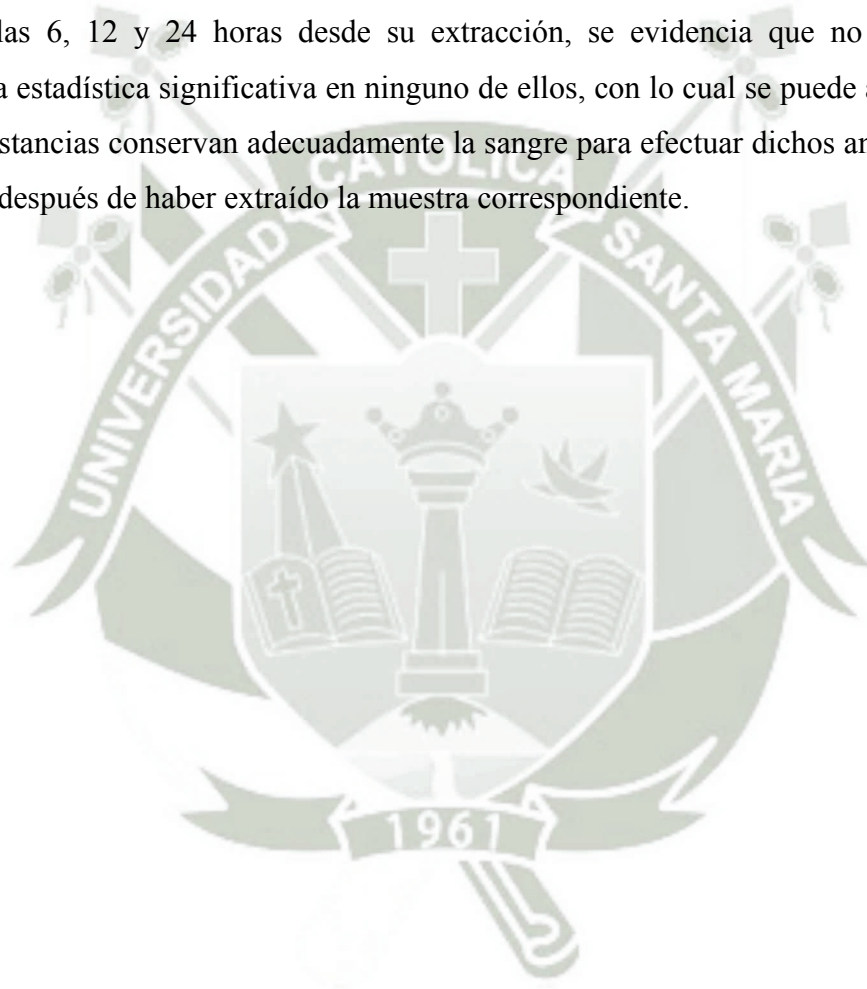
Fuente: Matriz de Datos "A"

En el presente cuadro se analiza y compara el comportamiento exhibido por el EDTA Dipotásico y el Trifosfato Pentasódico de grado técnico, a cuatro diferentes intervalos de tiempo para determinar el recuento manual de leucocitos, eritrocitos y plaquetas.

Al evaluar el recuento manual de leucocitos, eritrocitos y plaquetas en sangre anticoagulada con EDTA Dipotásico, no se detecta diferencias significativas en ninguno de estos análisis cuando se realizan al momento de extraer la muestra, tampoco pasadas las 6, 12 y 24 horas desde su extracción.

Al evaluar el recuento manual de leucocitos, eritrocitos y plaquetas en sangre anticoagulada con Trifosfato Pentasódico de grado técnico, no se detecta diferencias significativas en ninguno de estos análisis cuando se realizan al momento de extraer la muestra, tampoco pasadas las 6, 12 y 24 horas desde su extracción.

Al comparar los promedios resultantes para el recuento manual de leucocitos, eritrocitos y plaquetas de las sangres anticoaguladas con EDTA Dipotásico y Trifosfato Pentasódico de grado técnico, cuando éstos se efectúan al momento de extraerlas, y pasadas las 6, 12 y 24 horas desde su extracción, se evidencia que no existe una diferencia estadística significativa en ninguno de ellos, con lo cual se puede afirmar que ambas sustancias conservan adecuadamente la sangre para efectuar dichos análisis hasta 24 horas después de haber extraído la muestra correspondiente.



CUADRO N°3

COMPARACION ENTRE EL EDTA DIPOTASICO Y EL TRIFOSFATO
PENTASODICO DE GRADO TECNICO EN EL RECUENTO DIFERENCIAL
LEUCOCITARIO MANUAL REALIZADO A DIFERENTES HORAS

	Medición	EDTA Dipotásico		Trifosfato Pentasódico		P
		Media	D.E.	Media	D.E.	
Neutrófilos Segmentados (%)	0 Hr.	54.53	9.22	54.76	9.13	0.954 (N.S.)
	6 Hr.	55.05	9.07	55.50	8.42	0.975 (N.S.)
	12 Hr.	53.77	9.08	53.66	8.59	0.991 (N.S.)
	24 Hr.	53.20	8.91	53.01	8.75	0.998 (N.S.)
	P	0.489 (N.S.)		0.184 (N.S.)		
Neutrófilos Abastionados (%)	0 Hr. (A)	1.42	2.15	1.25	2.19	0.784 (N.S.)
	6 Hr. (B)	1.50	2.35	1.37	2.23	0.678 (N.S.)
	12 Hr. (C)	2.38	2.44	2.09	2.06	0.748 (N.S.)
	24 Hr. (D)	3.07	2.80	2.94	2.49	0.730 (N.S.)
	P	0.000 (S.S.)		0.000 (S.S.)		
		↓ A = B < C < D		↓ A = B < C < D		
Linfocitos (%)	0 Hr. (A)	34.23	9.12	34.27	8.98	0.999 (N.S.)
	6 Hr. (B)	33.77	9.23	33.70	8.56	0.998 (N.S.)
	12 Hr. (C)	35.87	9.33	36.38	8.58	0.876 (N.S.)
	24 Hr. (D)	36.66	8.99	36.82	8.58	0.902 (N.S.)
	P	0.088 (N.S.)		0.025 (S.S.)		
			↓ A = B < C = D			

Fuente: Matriz de Datos "B"

En el presente cuadro se analiza y compara el comportamiento exhibido por el EDTA Dipotásico y el Trifosfato Pentasódico de grado técnico, a cuatro diferentes intervalos de tiempo para determinar la diferenciación leucocitaria manual de Neutrófilos Segmentados, Neutrófilos Abastionados y Linfocitos.

Al evaluar la diferenciación leucocitaria manual en sangre anticoagulada con EDTA Dipotásico, no se detecta diferencias significativas para reconocer y contar los neutrófilos segmentados y linfocitos cuando se analizan al momento de extraer la muestra, tampoco pasadas las 6, 12 y 24 horas desde su extracción. No obstante, para el caso del recuento de neutrófilos abastionados se aprecia una diferencia estadística en su análisis a partir de las 12 horas que prosigue en aumento a las 24 horas desde su extracción en comparación de las 2 primeras horas evaluadas.

Al evaluar la diferenciación leucocitaria manual en sangre anticoagulada con Trifosfato Pentasódico de grado técnico, no se detecta diferencias significativas para reconocer y contar los neutrófilos segmentados, cuando se analizan al momento de extraer la muestra y tampoco pasadas las 6, 12 y 24 horas desde su extracción. No obstante, para el caso del recuento de neutrófilos abastionados y linfocitos, sí se aprecia una diferencia estadística en su análisis a partir de las 12 horas desde su extracción, que en el primer de los casos prosigue en aumento hasta las 24 horas y que en el segundo se mantiene fija hasta las 24 horas, en comparación a las 2 primeras horas evaluadas.

Al comparar los promedios resultantes para la diferenciación leucocitaria manual de Neutrófilos Segmentados, Neutrófilos Abastionados y Linfocitos en las sangres anticoaguladas con EDTA Dipotásico y Trifosfato Pentasódico de grado técnico, cuando ésta se efectúa al momento de extraerlas, y pasadas las 6, 12 y 24 horas desde su extracción, se evidencia que no existe una diferencia estadística significativa en ninguno de ellos (incluso en el recuento de linfocitos), con lo cual se puede aseverar que ambas sustancias conservan adecuadamente la sangre para efectuar dicho reconocimiento y recuento leucocitario hasta 24 horas después de haber extraído la muestra correspondiente.

CUADRO N°4

**COMPARACION ENTRE EL EDTA DIPOTASICO Y EL TRIFOSFATO
PENTASODICO DE GRADO TECNICO EN EL RECUENTO DIFERENCIAL
LEUCOCITARIO MANUAL REALIZADO A DIFERENTES HORAS**

	Medición	EDTA Dipotásico		Trifosfato Pentasódico		P
		Media	D.E.	Media	D.E.	
Eosinófilos (%)	0 Hr.	2.31	2.49	2.14	2.22	0.842 (N.S.)
	6 Hr.	2.22	2.34	2.26	2.07	0.905 (N.S.)
	12 Hr.	2.02	2.05	1.89	2.09	0.791 (N.S.)
	24 Hr.	1.92	2.13	1.65	2.02	0.849 (N.S.)
	P	0.599 (N.S.)		0.175 (N.S.)		
Basófilos (%)	0 Hr.	0.50	0.66	0.66	0.67	0.685 (N.S.)
	6 Hr.	0.48	0.59	0.55	0.64	0.722 (N.S.)
	12 Hr.	0.41	0.57	0.47	0.54	0.741 (N.S.)
	24 Hr.	0.36	0.52	0.41	0.59	0.735 (N.S.)
	P	0.897 (N.S.)		0.529 (N.S.)		
Monocitos (%)	0 Hr. (A)	7.01	2.94	6.93	3.01	0.824 (N.S.)
	6 Hr. (B)	7.02	3.03	6.77	3.00	0.737 (N.S.)
	12 Hr. (C)	5.53	2.51	5.52	2.53	0.998 (N.S.)
	24 Hr.(D)	4.80	2.29	5.17	2.54	0.917 (N.S.)
	P	0.000 (S.S.)		0.000 (S.S.)		
		↓		↓		
		A = B > C = D		A = B > C = D		

Fuente: Matriz de Datos "B"

En el presente cuadro se analiza y compara el comportamiento exhibido por el EDTA Dipotásico y el Trifosfato Pentasódico de grado técnico, a cuatro diferentes intervalos de tiempo para determinar la diferenciación leucocitaria manual de Eosinófilos, Basófilos y Monocitos.

Al evaluar la diferenciación leucocitaria manual en sangre anticoagulada con EDTA Dipotásico, no se detecta diferencias significativas para reconocer y contar los Eosinófilos y Basófilos, cuando éstos se analizan al momento de obtener la muestra y tampoco pasadas las 6, 12 y 24 horas desde su extracción. No obstante, para el caso del recuento de los Monocitos se aprecia una diferencia estadística en su análisis a partir de las 12 horas desde su extracción, manifestado en la disminución de sus valores, diferencia que se mantiene fija hasta pasadas las 24 horas, en comparación de las 2 primeras horas evaluadas.

Al evaluar la diferenciación leucocitaria manual en sangre anticoagulada con Trifosfato Pentasódico de grado técnico, no se detecta diferencias significativas para reconocer y contar los Eosinófilos y Basófilos, cuando éstos se analizan al momento de obtener la muestra y tampoco pasadas las 6, 12 y 24 horas desde su extracción. Sin embargo, para el caso del recuento de los Monocitos se aprecia una diferencia estadística en su análisis a partir de las 12 horas desde su extracción, manifestado en la disminución de sus valores, diferencia que se mantiene fija hasta pasadas las 24 horas, en comparación de las 2 primeras horas evaluadas.

Al comparar los promedios resultantes para la diferenciación leucocitaria manual de Eosinófilos, Basófilos y Monocitos de las sangres anticoaguladas con EDTA Dipotásico y Trifosfato Pentasódico de grado técnico, cuando ésta se efectúa al momento de extraerlas, y pasadas las 6, 12 y 24 horas desde su extracción, se evidencia que no existe una diferencia estadística significativa en ninguno de ellos, con lo cual se puede afirmar que ambas sustancias conservan adecuadamente la sangre para efectuar dicho reconocimiento y recuento leucocitario hasta 24 horas después de haber extraído la muestra correspondiente.

CUADRO N°5

**COMPARACION ENTRE EL EDTA DIPOTASICO Y EL TRIFOSFATO
PENTASODICO DE GRADO TECNICO EN LA DOSIFICACION MANUAL
DE HEMOGLOBINA Y DETERMINACION MANUAL DEL HEMATOCRITO
REALIZADAS A DIFERENTES HORAS**

	Medición	EDTA Dipotásico		Trifosfato Pentasódico		P
		Media	D.E.	Media	D.E.	
Dosificación de Hemoglobina (g/dL)	0 Hr.	16.18	2.34	16.52	2.33	0.747 (N.S.)
	6 Hr.	16.15	2.24	16.60	2.33	0.750 (N.S.)
	12 Hr.	16.24	2.23	16.49	2.32	0.814 (N.S.)
	24 Hr.	16.31	2.28	16.48	2.33	0.863 (N.S.)
	P	0.960 (N.S.)		0.984 (N.S.)		
Determinación del Hematocrito (%)	0 Hr.	48.55	6.22	47.19	6.22	0.459 (N.S.)
	6 Hr.	48.39	6.28	47.13	6.23	0.416 (N.S.)
	12 Hr.	48.14	6.26	46.97	6.30	0.368 (N.S.)
	24 Hr.	48.01	6.34	46.81	6.27	0.225 (N.S.)
	P	0.930 (N.S.)		0.974 (N.S.)		

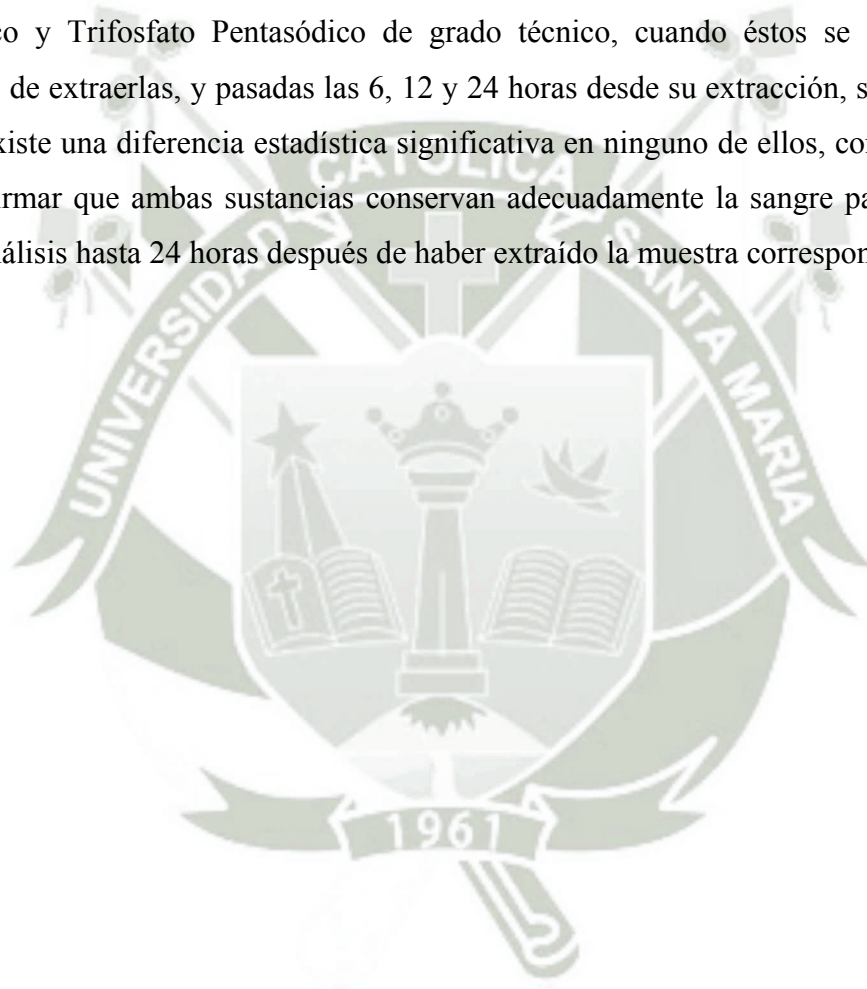
Fuente: Matriz de Datos "A"

En el presente cuadro se analiza y compara el comportamiento exhibido por el EDTA Dipotásico y el Trifosfato Pentasódico de grado técnico, a cuatro diferentes intervalos de tiempo, al realizar la dosificación manual de hemoglobina y la determinación manual del hematocrito.

Al evaluar la dosificación manual de hemoglobina y la determinación manual del hematocrito en sangre anticoagulada con EDTA Dipotásico, no se detecta diferencias significativas en ninguno de estos análisis cuando se realizan al momento de extraer la muestra, tampoco pasadas las 6, 12 y 24 horas desde su extracción.

Al evaluar la dosificación manual de hemoglobina y la determinación manual del hematocrito en sangre anticoagulada con Trifosfato Pentasódico de grado técnico, no se detecta diferencias significativas en ninguno de estos análisis cuando se realizan al momento de extraer la muestra, tampoco pasadas las 6, 12 y 24 horas desde su extracción.

Al comparar los promedios resultantes para la dosificación manual de hemoglobina y determinación manual del hematocrito de las sangres anticoaguladas con EDTA Dipotásico y Trifosfato Pentasódico de grado técnico, cuando éstos se efectúan al momento de extraerlas, y pasadas las 6, 12 y 24 horas desde su extracción, se evidencia que no existe una diferencia estadística significativa en ninguno de ellos, con lo cual se puede afirmar que ambas sustancias conservan adecuadamente la sangre para efectuar dichos análisis hasta 24 horas después de haber extraído la muestra correspondiente.



CUADRO N°6

COMPARACION ENTRE EL EDTA DIPOTASICO Y EL TRIFOSFATO
PENTASODICO DE GRADO TECNICO EN EL RECuento
AUTOMATIZADO DE LEUCOCITOS, ERITROCITOS Y PLAQUETAS
REALIZADOS A DIFERENTES HORAS

	Medición	EDTA Dipotásico		Trifosfato Pentasódico		P
		Media	D.E.	Media	D.E.	
Recuento de Leucocitos (miles/ μ L)	0 Hr.	6.16	1.61	6.39	1.63	0.268 (N.S.)
	24 Hr.	6.14	1.60	6.25	1.63	0.193 (N.S.)
	P	0.920 (N.S.)		0.568 (N.S.)		
Recuento de Eritrocitos (millones/ μ L)	0 Hr.	5.35	0.56	5.42	0.58	0.873 (N.S.)
	24 Hr.	5.34	0.56	5.42	0.58	0.884 (N.S.)
	P	0.859 (N.S.)		1.000 (N.S.)		
Recuento de Plaquetas (miles/ μ L)	0 Hr.	228.15	54.22	237.18	54.47	0.241 (N.S.)
	24 Hr.	226.41	53.46	234.90	54.78	0.275 (N.S.)
	P	0.782 (N.S.)		0.768 (N.S.)		

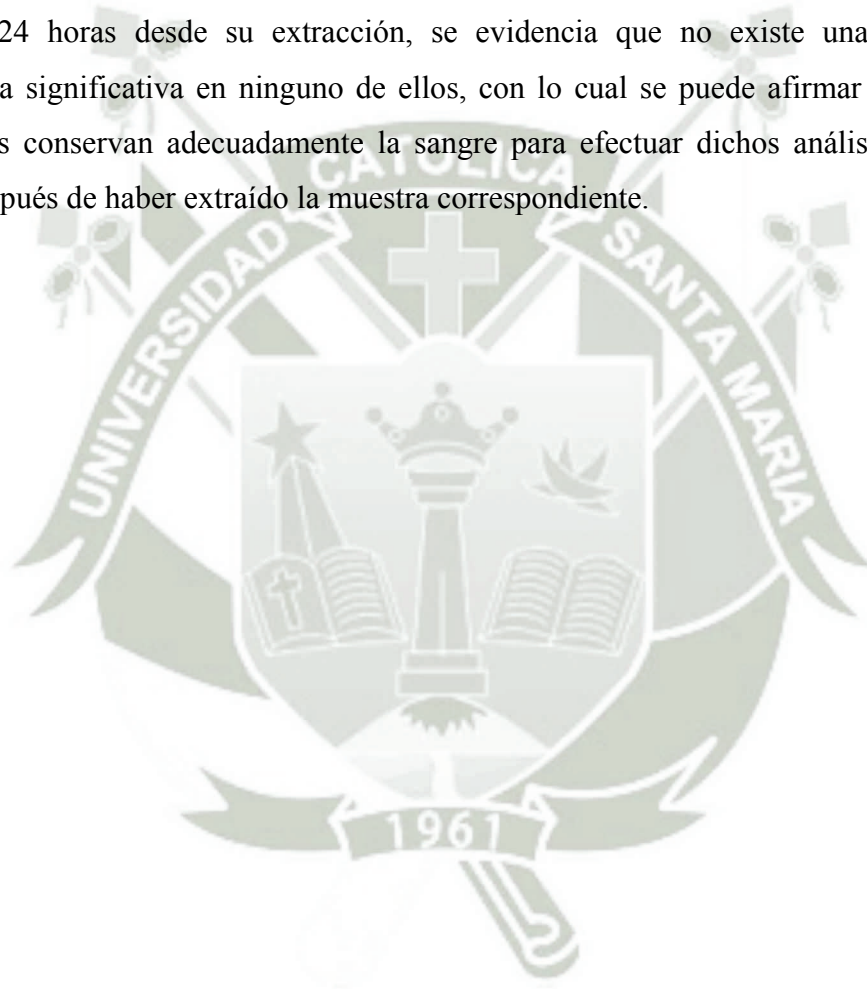
Fuente: Matriz de Datos "C"

En el presente cuadro se analiza y compara el comportamiento exhibido por el EDTA Dipotásico y el Trifosfato Pentasódico de grado técnico, a dos diferentes intervalos de tiempo para determinar el recuento automatizado de leucocitos, eritrocitos y plaquetas.

Al evaluar el recuento automatizado de leucocitos, eritrocitos y plaquetas en sangre anticoagulada con EDTA Dipotásico, no se detecta diferencias significativas en ninguno de estos análisis cuando se realizan al momento de extraer la muestra o pasadas las 24 horas desde su extracción.

Al evaluar el recuento automatizado de leucocitos, eritrocitos y plaquetas y segmentados en sangre anticoagulada con Trifosfato Pentasódico de grado técnico, no se detecta diferencias significativas en ninguno de estos análisis cuando se realizan al momento de extraer la muestra o pasadas las 24 horas desde su extracción.

Al comparar los promedios resultantes para el recuento automatizado de leucocitos, eritrocitos y plaquetas de las sangres anticoaguladas con EDTA Dipotásico y Trifosfato Pentasódico de grado técnico, cuando éstos se efectúan al momento de extraerlas y pasadas 24 horas desde su extracción, se evidencia que no existe una diferencia estadística significativa en ninguno de ellos, con lo cual se puede afirmar que ambas sustancias conservan adecuadamente la sangre para efectuar dichos análisis hasta 24 horas después de haber extraído la muestra correspondiente.



CUADRO N°7

**COMPARACION ENTRE EL EDTA DIPOTASICO Y EL TRIFOSFATO
PENTASODICO DE GRADO TECNICO EN EL RECUENTO
AUTOMATIZADO DIFERENCIAL DE LEUCOCITOS REALIZADO A
DIFERENTES HORAS**

	Medición	EDTA Dipotásico		Trifosfato Pentasódico		P
		Media	D.E.	Media	D.E.	
Neutrófilos (%)	0 Hr.	56.94	8.48	57.92	8.15	0.348 (N.S.)
	24 Hr.	58.78	8.64	58.67	8.05	0.892 (N.S.)
	P	0.131 (N.S.)		0.515 (N.S.)		
Linfocitos (%)	0 Hr.	34.37	7.69	33.68	7.46	0.791 (N.S.)
	24 Hr.	34.80	7.84	34.52	7.41	0.934 (N.S.)
	P	0.693 (N.S.)		0.426 (N.S.)		

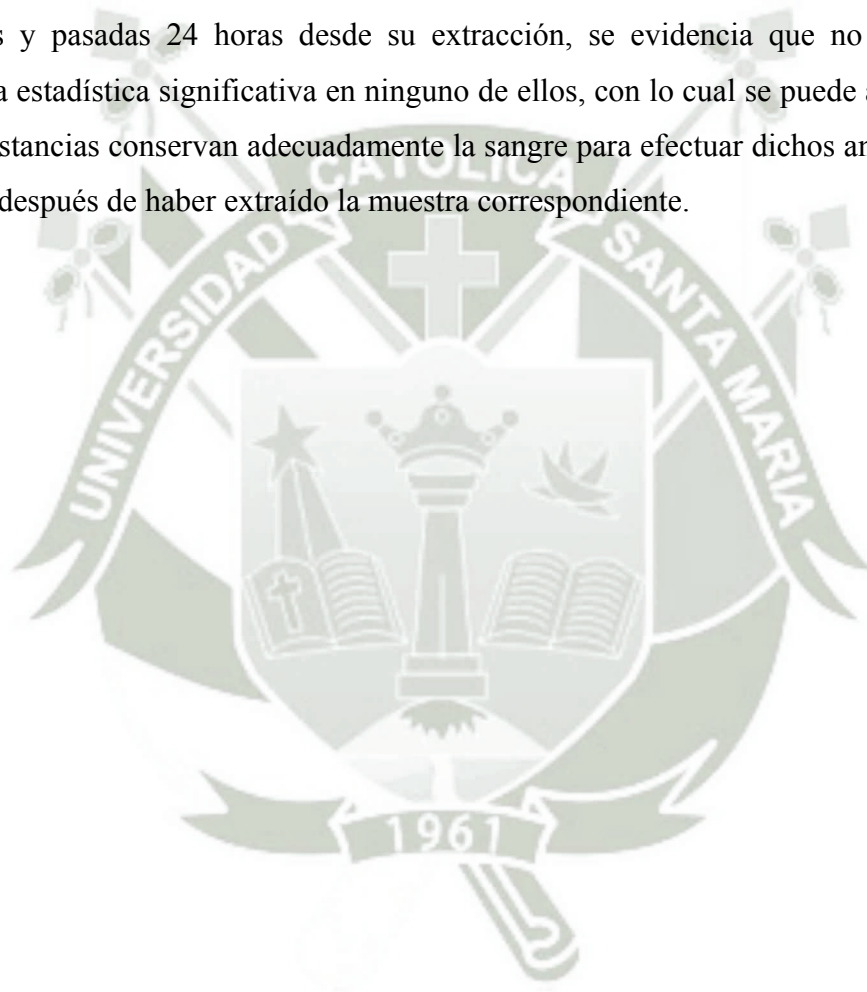
Fuente: Matriz de Datos “C”

En el presente cuadro se analiza y compara el comportamiento exhibido por el EDTA Dipotásico y el Trifosfato Pentasódico de grado técnico, a dos diferentes intervalos de tiempo para determinar el recuento automatizado diferencial de leucocitos (neutrófilos y linfocitos).

Al evaluar el recuento automatizado diferencial de leucocitos neutrófilos y linfocitos en sangre anticoagulada con EDTA Dipotásico, no se detecta diferencias significativas en ninguno de las clases leucocitarias consideradas, cuando su análisis se realiza al momento de extraer la muestra o pasadas las 24 horas desde su extracción.

Al evaluar el recuento automatizado diferencial de leucocitos neutrófilos y linfocitos en sangre anticoagulada con Trifosfato Pentasódico de grado técnico, no se detecta diferencias significativas en ninguno de las clases leucocitarias consideradas, cuando su análisis se realiza al momento de extraer la muestra o pasadas las 24 horas desde su extracción.

Al comparar los promedios resultantes para el recuento diferencial automatizado de leucocitos neutrófilos y linfocitos de las sangres anticoaguladas con EDTA Dipotásico y Trifosfato Pentasódico de grado técnico, cuando éstos se efectúan al momento de extraerlas y pasadas 24 horas desde su extracción, se evidencia que no existe una diferencia estadística significativa en ninguno de ellos, con lo cual se puede afirmar que ambas sustancias conservan adecuadamente la sangre para efectuar dichos análisis hasta 24 horas después de haber extraído la muestra correspondiente.



CUADRO N°8

**COMPARACIÓN ENTRE EL EDTA DIPOTÁSICO Y EL TRIFOSFATO
PENTASODICO DE GRADO TECNICO EN LA DOSIFICACION
AUTOMATIZADA DE HEMOGLOBINA Y DETERMINACION
AUTOMATIZADA DEL HEMATOCRITO REALIZADAS A DIFERENTES
HORAS**

	Medición	EDTA Dipotásico		Trifosfato Pentasódico		P
		Media	D.E.	Media	D.E.	
Dosificación de Hemoglobina (g/dL)	0 Hr.	16.31	1.72	16.63	1.76	0.646 (N.S.)
	24 Hr.	16.40	1.70	16.69	1.79	0.672 (N.S.)
	P	0.711 (N.S.)		0.812 (N.S.)		
Determinación del Hematocrito (%)	0 Hr.	46.58	4.38	47.25	4.49	0.718 (N.S.)
	24 Hr.	46.44	4.33	47.42	4.51	0.736 (N.S.)
	P	0.818 (N.S.)		0.792 (N.S.)		

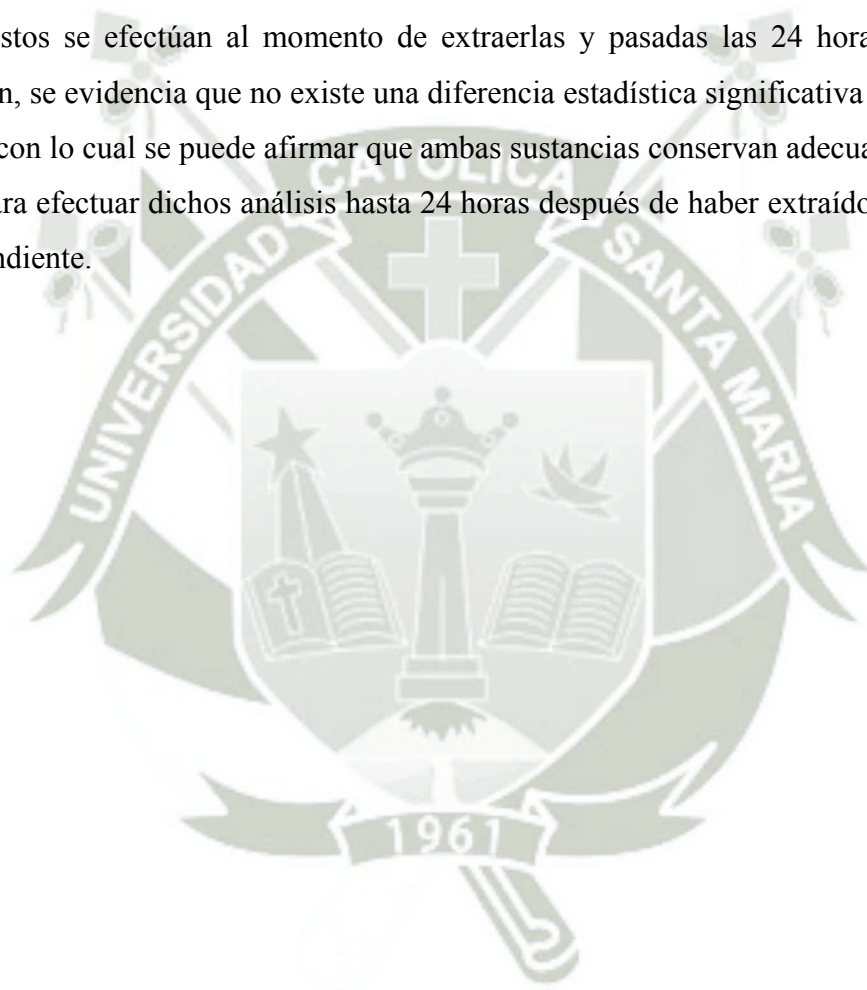
Fuente: Matriz de Datos “C”

En el presente cuadro se analiza y compara el comportamiento exhibido por el EDTA Dipotásico y el Trifosfato Pentasódico de grado técnico, a dos diferentes intervalos de tiempo, al realizar la dosificación automatizada de hemoglobina y la determinación automatizada del hematocrito.

Al evaluar la dosificación automatizada de hemoglobina y la determinación automatizada del hematocrito en sangre anticoagulada con EDTA Dipotásico, no se detecta diferencias significativas en ninguno de estos análisis cuando se realizan al momento de extraer la muestra o pasadas las 24 horas desde su extracción.

Al evaluar la dosificación automatizada de hemoglobina y la determinación automatizada del hematocrito en sangre anticoagulada con Trifosfato Pentasódico de grado técnico, no se detecta diferencias significativas en ninguno de estos análisis cuando se realizan al momento de extraer la muestra o pasadas las 24 horas desde su extracción.

Al comparar los promedios resultantes para la dosificación automatizada de hemoglobina y determinación automatizada del hematocrito de las sangres anticoaguladas con EDTA Dipotásico y Trifosfato Pentasódico de grado técnico, cuando éstos se efectúan al momento de extraerlas y pasadas las 24 horas desde su extracción, se evidencia que no existe una diferencia estadística significativa en ninguno de ellos, con lo cual se puede afirmar que ambas sustancias conservan adecuadamente la sangre para efectuar dichos análisis hasta 24 horas después de haber extraído la muestra correspondiente.



CUADRO N°9

**COMPARACIÓN ENTRE EL EDTA DIPOTÁSICO Y EL TRIFOSFATO
PENTASÓDICO DE GRADO TÉCNICO EN EL ANÁLISIS DE LA
VELOCIDAD DE ERITROSEDIMENTACION**

	Medición	EDTA Dipotásico		Trifosfato Pentasódico		P
		Media	D.E.	Media	D.E.	
Velocidad de Eritrosedimentación (mm/h)	Primera Hora	5.72	7.22	6.46	7.85	0.164 (N.S.)
	Segunda Hora	12.94	11.34	13.83	11.84	0.149 (N.S.)

Fuente: Matriz de Datos "A"

Al comparar los promedios resultantes de la determinación de la velocidad de eritrosedimentación a dos tiempos, empleando sangres anticoaguladas con EDTA Dipotásico y Trifosfato Pentasódico de grado técnico, se comprueba que no existe una diferencia estadística significativa en ninguno de los dos lapsos, es decir que una muestra sanguínea anticoagulada, con cualquiera de las dos sustancias, que es sometida a la prueba de la velocidad de eritrosedimentación brindará los mismos resultados tanto en la primera hora, como en la segunda hora de seguimiento. Con lo que se puede afirmar que ambas sustancias conservan adecuadamente la sangre para efectuar este análisis hasta en dos tiempos consecutivos sin esperar ningún tipo de modificaciones significativas.

CUADRO N°10

COMPARACION ENTRE EL CITRATO SODICO Y EL TRIFOSFATO
PENTASODICO DE GRADO TECNICO EN LA DETERMINACIÓN DEL
PORCENTAJE DE ACTIVIDAD PROTROMBINICA

	Citrato de Sodio		Trifosfato Pentasódico		P
	Media	D.E.	Media	D.E.	
Actividad de Protrombina (%)	84.27	14.34	86.42	14.92	0.300 (P ≥ 0.05) N.S.

Fuente: Matriz de Datos "D"

Al comparar los promedios resultantes en la determinación de la actividad de protrombina usando sangres anticoaguladas con Citrato de Sodio y Trifosfato Pentasódico de grado técnico, se comprueba que no existe una diferencia estadística significativa ($p=0.300$) entre ambos, con lo cual se puede afirmar que ambas sustancias conservan adecuadamente la sangre para efectuar este análisis sin esperar ningún tipo de variación significativa.

CUADRO N°11

COMPARACION ENTRE EL CITRATO SODICO Y EL TRIFOSFATO
PENTASODICO DE GRADO TECNICO EN LA DETERMINACIÓN DEL
TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ACTIVADA

	Citrato de Sodio		Trifosfato Pentasódico		P
	Media	D.E.	Media	D.E.	
Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (segundos)	35.83	4.22	62.21	11.29	0.000 (P < 0.05) S.S.

Fuente: Matriz de Datos “D”

Al comparar los promedios resultantes de la determinación del tiempo de tromboplastina parcial activada empleando sangres anticoaguladas con Citrato de Sodio y Trifosfato Pentasódico de grado técnico, se denota un claro contraste entre ellos (diferencia media de 26,38 segundos) lo que ocasiona que se traduce en la aparición de una diferencia estadística significativa ($p=0.000$) entre ambos, con lo cual se puede deducir que a comparación del Citrato de Sodio (calificado como el anticoagulante de referencia para esta prueba), el Trifosfato Pentasódico de grado técnico no podría ser considerado como anticoagulante para extraer muestras sanguíneas consignadas a ejecutar este tipo de análisis.

CUADRO N°12

COMPARACION ENTRE EL CITRATO SODICO Y EL TRIFOSFATO
PENTASODICO DE GRADO TECNICO EN LA DOSIFICACION DE
FIBRINOGENO PLASMATICO

	Citrato de Sodio		Trifosfato Pentasódico		P
	Media	D.E.	Media	D.E.	
Dosificación de Fibrinógeno (mg/dL)	308.50	83.34	309.40	85.57	0.938 (P ≥ 0.05) N.S.

Fuente: Matriz de Datos "D"

Al comparar los promedios resultantes de la dosificación de fibrinógeno plasmático usando sangres anticoaguladas con Citrato de Sodio y Trifosfato Pentasódico de grado técnico, se observa que no existe una diferencia estadística significativa ($p=0.938$) entre ambos, con lo cual se puede aseverar que ambas sustancias conservan adecuadamente la sangre para efectuar este análisis sin esperar ningún tipo de variación significativa.

CUADRO N°13

**TABLA DE CONTINGENCIA 2X2 PARA DETERMINAR LA SENSIBILIDAD
Y ESPECIFICIDAD DEL TRIFOSFATO PENTASODICO DE GRADO
TECNICO EN RELACION AL EDTA DIPOTASICO EN EL RECuento
MANUAL DE LEUCOCITOS**

		EDTA Dipotásico		
		+	-	
Trifosfato Pentasódico	+	23	1	24
	-	4	72	76
		27	73	100

Fuente: Matriz de datos "A"

CRITERIOS DE POSITIVIDAD

Recuento de Leucocitos Normal : 5 - 10.1 miles/ μ L

Positivo : < 5 miles/ μ L ó > 10.1 miles/ μ L

SENSIBILIDAD

$$\frac{a \times 100}{a + c} = \frac{23 \times 100}{23 + 4} = 85.19\%$$

ESPECIFICIDAD

$$\frac{d \times 100}{d + b} = \frac{72 \times 100}{72 + 1} = 98.63\%$$

Como se puede apreciar en el presente cuadro, se encontró una sensibilidad del 85.19% y una especificidad del 98.63 % según el empleo de las fórmulas indicadas.

CUADRO N°14

**TABLA DE CONTINGENCIA 2X2 PARA DETERMINAR LA SENSIBILIDAD
Y ESPECIFICIDAD DEL TRIFOSFATO PENTASODICO DE GRADO
TECNICO EN RELACION AL EDTA DIPOTASICO EN EL RECUESTO
MANUAL DE ERITROCITOS**

		EDTA Dipotásico		
		+	-	
Trifosfato Pentasódico	+	20	1	21
	-	3	76	79
		23	77	100

Fuente: Matriz de datos A

CRITERIOS DE POSITIVIDAD

Recuento de Eritrocitos normal (hombres):

4.3 – 5.8 millones/ μ L

Positivo:

< 4.3 ó > 5.8 millones/ μ L

Recuento de Eritrocitos normal (mujeres):

3.8 – 5.2 millones/ μ L

Positivo:

< 3.8 ó > 5.2 millones/ μ L

SENSIBILIDAD

$$\frac{a \times 100}{a + c} = \frac{20 \times 100}{20 + 3} = 86.96 \%$$

ESPECIFICIDAD

$$\frac{d \times 100}{d + b} = \frac{76 \times 100}{76 + 1} = 98.70\%$$

Como se puede apreciar en el en el presente cuadro se encontró una sensibilidad del 86.96% y una especificidad del 98.70 % según el empleo de las fórmulas indicadas.

CUADRO N°15

**TABLA DE CONTINGENCIA 2X2 PARA DETERMINAR LA SENSIBILIDAD
Y ESPECIFICIDAD DEL TRIFOSFATO PENTASODICO DE GRADO
TECNICO EN RELACION AL EDTA DIPOTASICO EN EL RECUESTO
MANUAL DE PLAQUETAS**

		EDTA Dipotásico		
		+	-	
Trifosfato Pentasódico	+	3	0	3
	-	1	96	97
		4	96	100

Fuente: Matriz de datos A

CRITERIOS DE POSITIVIDAD

Recuento de Plaquetas Normal : 150 - 450 miles/ μ L

Positivo : < 150 miles/ μ L ó > 450 miles/ μ L

SENSIBILIDAD

$$\frac{a \times 100}{a + c} = \frac{3 \times 100}{3 + 1} = 75.00 \%$$

ESPECIFICIDAD

$$\frac{d \times 100}{d + b} = \frac{96 \times 100}{96 + 0} = 100.00 \%$$

Como se puede apreciar en el presente cuadro se encontró una sensibilidad del 75.00 % y una especificidad del 100.00 % según el empleo de las fórmulas indicadas.

CUADRO N°16

**TABLA DE CONTINGENCIA 2X2 PARA DETERMINAR LA SENSIBILIDAD
Y ESPECIFICIDAD DEL TRIFOSFATO PENTASODICO DE GRADO
TECNICO EN RELACION AL EDTA DIPOTASICO EN LA DOSIFICACIÓN
MANUAL DE HEMOGLOBINA**

		EDTA Dipotásico		
		+	-	
Trifosfato Pentasódico	+	28	6	34
	-	1	65	66
		29	71	100

Fuente: Matriz de datos A

CRITERIOS DE POSITIVIDAD

Hemoglobina normal (hombres):

14 - 18 g / dL

Positivo:

< 14 ó > 18 g / dL

Hemoglobina normal (mujeres):

12 - 16 g / dL

Positivo:

< 12 ó > 16 g / dL

SENSIBILIDAD

$$\frac{a \times 100}{a + c} = \frac{28 \times 100}{28 + 1} = 96.55 \%$$

ESPECIFICIDAD

$$\frac{d \times 100}{d + b} = \frac{65 \times 100}{65 + 6} = 91.55 \%$$

Como se puede apreciar en el presente cuadro se encontró una sensibilidad del 96.55 % y una especificidad del 91.55 % según el empleo de las fórmulas indicadas.

CUADRO N°17

**TABLA DE CONTINGENCIA 2X2 PARA DETERMINAR LA SENSIBILIDAD
Y ESPECIFICIDAD DEL TRIFOSFATO PENTASODICO DE GRADO
TECNICO EN RELACION AL EDTA DIPOTASICO EN LA
DETERMINACION DEL HEMATOCRITO**

		EDTA Dipotásico		
		+	-	
Trifosfato Pentasódico	+	22	2	24
	-	3	73	76
		25	75	100

Fuente: Matriz de datos A

CRITERIOS DE POSITIVIDAD

Recuento de Eritrocitos normal (hombres):

42 – 52 %

Positivo:

< 42 ó > 52 %

Recuento de Eritrocitos normal (mujeres):

36 – 47 %

Positivo:

< 36 ó > 47 %

SENSIBILIDAD

$$\frac{a \times 100}{a + c} = \frac{22 \times 100}{22 + 3} = 88.00 \%$$

ESPECIFICIDAD

$$\frac{d \times 100}{d + b} = \frac{73 \times 100}{73 + 2} = 97.33 \%$$

Como se puede apreciar en el presente cuadro se encontró una sensibilidad del 88.00 % y una especificidad del 97.33 % según el empleo de las fórmulas indicadas.

CUADRO N°18

TABLA DE CONTINGENCIA 2X2 PARA DETERMINAR LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DEL TRIFOSFATO PENTASODICO DE GRADO TECNICO EN RELACION AL EDTA DIPOTASICO EN LA VELOCIDAD DE ERITROSEDIMENTACION

		EDTA Dipotásico		
		+	-	
Trifosfato Pentasódico	+	10	1	11
	-	0	89	89
		10	90	100

Fuente: Matriz de datos A

CRITERIOS DE POSITIVIDAD

Recuento de Eritrocitos normal (hombres): 0 - 10 mm/h	Positivo: > 10 mm/h
Recuento de Eritrocitos normal (mujeres): 0 - 15 mm/h	Positivo: > 15 mm/h

SENSIBILIDAD

$$\frac{a \times 100}{a + c} = \frac{10 \times 100}{10 + 0} = 100.00 \%$$

ESPECIFICIDAD

$$\frac{d \times 100}{d + b} = \frac{89 \times 100}{89 + 1} = 98.89 \%$$

Como se puede apreciar en el presente cuadro se encontró una sensibilidad del 100.00% y una especificidad del 98.89 % según el empleo de las fórmulas indicadas.

CUADRO N°19

**TABLA DE CONTINGENCIA 2X2 PARA DETERMINAR LA SENSIBILIDAD
Y ESPECIFICIDAD DEL TRIFOSFATO PENTASODICO DE GRADO
TECNICO EN RELACION AL CITRATO DE SODIO EN LA
DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD DE PROTROMBINICA**

		Citrato de Sodio		
		+	-	
Trifosfato Pentasódico	+	21	2	23
	-	1	76	77
		22	78	100

Fuente: Matriz de datos D

CRITERIOS DE POSITIVIDAD

Actividad de Protrombina Normal : 80 – 100 %

Positivo : < 80 %

SENSIBILIDAD

$$\frac{a \times 100}{a + c} = \frac{21 \times 100}{21 + 1} = 95.45 \%$$

ESPECIFICIDAD

$$\frac{d \times 100}{d + b} = \frac{76 \times 100}{76 + 2} = 97.44 \%$$

Como se puede apreciar en el presente cuadro se encontró una sensibilidad del 95.45 % y una especificidad del 97.44 % según el empleo de las fórmulas indicadas.

CUADRO N°20

**TABLA DE CONTINGENCIA 2X2 PARA DETERMINAR LA SENSIBILIDAD
Y ESPECIFICIDAD DEL TRIFOSFATO PENTASODICO DE GRADO
TECNICO EN RELACION AL CITRATO DE SODIO EN LA DOSIFICACION
DE FIBRINOGENO**

		Citrato de Sodio		
		+	-	
Trifosfato Pentasódico	+	20	2	22
	-	1	77	78
		21	79	100

Fuente: Matriz de datos D

CRITERIOS DE POSITIVIDAD

Concentración de Fibrinógeno Normal : 200 - 400 mg / dL
Positivo : < 200 ó > 400 mg / dL

SENSIBILIDAD

$$\frac{a \times 100}{a + c} = \frac{20 \times 100}{20 + 1} = 95.24 \%$$

ESPECIFICIDAD

$$\frac{d \times 100}{d + b} = \frac{77 \times 100}{77 + 2} = 97.47 \%$$

Como se puede apreciar en el presente cuadro se encontró una sensibilidad del 95.24 % y una especificidad del 97.47 % según el empleo de las fórmulas indicadas.

DISCUSION DE RESULTADOS

El EDTA y el Citrato de Sodio son los anticoagulantes más recomendados y usados en el área hematológica de los laboratorios clínicos, debido a que permiten desarrollar las pruebas médicas más comúnmente solicitadas. Actualmente, el EDTA es considerado como el anticoagulante in vitro básico por sus numerosas ventajas, sin embargo al quelar el Calcio de una forma muy estable, es que no se le utiliza en las pruebas de coagulación (comunes en los perfiles pre-operatorios), mientras que el Citrato de Sodio justamente es el anticoagulante de excelencia para llevar a cabo estas pruebas, aunque su campo de acción esté parcialmente ceñido a ello. Entonces pese a las ventajas que presentan ambas sustancias, es imposible no separar su beneficio individual, es decir, que ninguna de las dos podría usarse para extraer especímenes sanguíneos que permitan desarrollar absolutamente todas las pruebas hematológicas de rutina que son requeridas.

Por tal motivo es que en la última década se está en la búsqueda para encontrar el anticoagulante in vitro "universal", en otras palabras, el anticoagulante que permita realizar diversas pruebas clínicas con la misma muestra extraída, lo cual permita a su vez, efectuar un mayor número de exámenes con un menor volumen sanguíneo.

En los pacientes estudiados en la presente investigación hubo un mayor número de hombres que mujeres (77.5 y 22.5%, respectivamente). En lo referente a las edades se tuvo que un promedio de edades en hombres de 31.31 años y en mujeres de 30.91 años.

Al aplicar un Análisis de Varianza (ANOVA), sustentado con la prueba de Tukey, para evaluar estadísticamente el comportamiento mostrado por muestras anticoaguladas con EDTA Dipotásico y Trifosfato Pentasódico de grado técnico a cuatro diferentes horas (0, 6, 12 y 24) en la cuantificación de los parámetros que forman parte de la citometría hemática (recuento leucocitario, eritrocitario, plaquetario, dosificación de hemoglobina, y determinación del hematocrito) manual (**cuadros N°2 y N°5**) y automatizada (**cuadros N°6 y N°8**), se encontró que no existe una diferencia significativa (a un intervalo de confianza del 95%) en su comportamiento a lo largo de los intervalos considerados, tanto en las muestras obtenidas con EDTA Dipotásico, como en aquellas extraídas con Trifosfato Pentasódico de grado técnico.

Para el caso del análisis de la diferenciación leucocitaria manual (recuento porcentual de neutrófilos segmentados, neutrófilos abastados, eosinófilos, basófilos, monocitos y linfocitos), que también forma parte de la Citometría Hemática, se aplicó la misma metodología estadística, y en general los resultados obtenidos expresan que si bien en alguna de las poblaciones leucocitarias (neutrófilos abastados y monocitos) de muestras obtenidas con EDTA Dipotásico existe diferencias significativas a partir de las 12 horas desde su extracción (**cuadros N°2 y N°3**), estas mismas diferencias aparecen en el comportamiento mostrado en las muestras extraídas con Trifosfato Pentasódico de grado técnico, a excepción del caso de recuento diferencial de linfocitos, que mostró diferencia estadísticamente significativa a partir de las 12 horas sólo en las muestras extraídas con Trifosfato Pentasódico. El comportamiento en la diferenciación leucocitaria automatizada (recuento porcentual de neutrófilos y linfocitos) entre las muestras obtenidas con EDTA Dipotásico y Trifosfato pentasódico de grado técnico (**cuadro N°7**), no mostró diferencias significativas entre los diferentes tiempos de análisis para ambos casos.

Con apoyo del estadístico T de Student para muestras independientes, se pudo conocer que los promedios resultantes de los parámetros que forman parte de la citometría hemática (recuento leucocitario, eritrocitario, plaquetario, diferenciación leucocitaria, dosificación de hemoglobina, y determinación del hematocrito) manual (**cuadros N°2, N°3, N°4 y N°5**) y automatizada (**cuadros N°6, N°7 y N°8**) entre las muestras anticoaguladas con EDTA Dipotásico y Trifosfato Pentasódico de grado técnico, independientemente en cada una de las horas analizadas, no eran estadísticamente diferentes a un intervalo del 95% de confianza. Con esto se confirma que el comportamiento exhibido por muestras extraídas con EDTA Dipotásico y Trifosfato Pentasódico de grado técnico para desarrollar las pruebas de Citometría hemática es equivalente, ya sea desde el momento de su extracción o hasta 24 horas después del mismo. Incluso habría que indicarse que la diferencia señalada en el párrafo anterior, sobre la modificación en el recuento diferencial de linfocitos a partir de las 12 horas de extracción de muestras con el Trifosfato Pentasódico, quedaría sin mucha importancia.

Se compararon independientemente los resultados registrados de efectuar la prueba de la Velocidad de Eritrosedimentación en dos horas consecutivas a muestras obtenidas con EDTA Dipotásico y Trifosfato Pentasódico de grado técnico (**cuadro N°9**), y se demostró que no existe diferencia significativa entre ellos, tanto para los valores obtenidos a la primera hora, como para los valores a la segunda hora. Con lo que se puede inferir que la velocidad con la que sedimenten los eritrocitos durante 1 hora será igual en una muestra obtenida con EDTA Dipotásico o Trifosfato Pentasódico de grado técnico, así como también lo será la velocidad con la que lo hagan durante la segunda hora consecutiva.

Asimismo, se encontró que el Tiempo de Protrombina y la Dosificación de Fibrinógeno no se ven afectadas por el tipo de anticoagulante que se utiliza para obtener la muestra, cuando las opciones están entre el Citrato de Sodio 3.2% y el Trifosfato Pentasódico de grado técnico, al haber calculado valores de $p=0.300$ y $p=0.398$ respectivamente (**cuadros N°10 y N°12**), cuando se comparó las medias respectivas con ayuda del estadístico t de Student para muestras no pareadas (a nivel de confianza del 95%).

A diferencia de todo lo anterior, al comparar los valores obtenidos en la prueba del Tiempo Parcial de Tromboplastina de las muestras extraídas con Citrato de Sodio 3.2% y Trifosfato Pentasódico de grado técnico, la situación brinda un panorama contrario, pues se demuestra que existe diferencia estadísticamente significativa ($p<0.05$) entre los promedios 35.83 ± 4.22 segundos y 62.21 ± 11.29 segundos conseguidos respectivamente (**cuadro N°11**), una diferencia marcada que faculta poder concluir que el Trifosfato Pentasódico de grado técnico no pueda ser recomendado como anticoagulante para obtener muestras consignadas a realizar el análisis hemostático del Tiempo de Tromboplastina Parcial.

Se ha demostrado que las pruebas analizadas con sangre obtenida con el Trifosfato Pentasódico de grado técnico, tienen una alta especificidad y sensibilidad (considerando que una sensibilidad del 80% y una especificidad del 90% describen a una “prueba” que si bien no es lo ideal, es de calidad en medicina clínica¹¹⁷) cuando se le comparó con los anticoagulantes “estándares” EDTA y Citrato de Sodio (**cuadro**

N°13,14,16,17,18,19,20), lo cual indica que es altamente adecuada para clasificar el recuento manual leucocitario, eritrocitario, la dosificación de hemoglobina, la determinación del hematocrito, la velocidad de eritrosedimentación, el tiempo de protrombina y la dosificación de fibrinógeno, todos ellos como alterado o normal, según sea el caso, ya que concuerdan con los datos obtenidos de los anticoagulantes de referencia, y que se hizo de conformidad con los valores de referenciales normales (ajustados en algunos casos de acuerdo al género) manejados en el Laboratorio Clínico Llerena Ames donde se ejecutó la investigación. En el caso referente al recuento plaquetario, la sensibilidad encontrada fue del 75% (**cuadro N°15**) y si bien es menor del 80%, dentro de todo podría considerarse como adecuada, teniendo en cuenta el número total de diagnósticos patológicos que se consideró. Aclarar que no se definió el porcentaje de sensibilidad y especificidad del Trifosfato Pentasódico para el análisis del Tiempo Parcial de Tromboplastina, debido a imposibilidad para relacionar los datos, por la diferencia marcada que hubo entre ellos.

Lo demostrado hasta este punto, confirma en parte lo concluido en la investigación realizada por Rangel y cols. (2009)¹¹⁸, al indicar que la sangre anticoagulada con Trifosfato Pentasódico de pureza 99% y a una concentración del 5% ofrece resultados similares a las tratadas con EDTA y Citrato de Sodio en la determinación de parámetros de hematología completa y tiempos de coagulación, ya que con lo investigado puede decirse que no es tan necesario que tenga dicho grado de pureza para tener el mismo efecto. Además complementa a este mismo estudio, ya que ahora también podría afirmarse que el Trifosfato Pentasódico es útil como anticoagulante para desarrollar el análisis de Velocidad de Eritrosedimentación y Dosificación de Fibrinógeno, sin esperar resultados diferentes a los que se obtendrían al emplear el EDTA o el Citrato de Sodio respectivamente. Sin embargo, no hay que dejar pasar por alto que uno de los resultados presentados en este estudio difiere con la investigación mencionada, pues Rangel y cols. concluyeron que en comparación al plasma Citratado, el plasma derivado del Trifosfato Pentasódico NO causa alteraciones en los tiempos de coagulación tales como el Tiempo de Tromboplastina Parcial. La discrepancia a simple vista podría recaer en la pureza que deba tener la sustancia para efectuar dicho análisis.

¹¹⁸ RANGEL L. QUINTERO M. ARCHILE A. *et al.* "Evaluación del tripolifosfato de sodio como anticoagulante en determinaciones hematológicas en ser humanos" Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Medicina Transfuncional 2009

Señalar que los beneficios del Trifosfato Pentasódico, como anticoagulante in-vitro, se expanden también por su utilidad en la tipificación de grupos sanguíneos, así lo comprobó Macsy y cols. (2007).¹¹⁹

Asimismo, el hecho de haber incluido muestras patológicas como parte de las unidades de estudio y que sus resultados no hayan diferido considerablemente cuando se las extrajo con Trifosfato Pentasódico y con EDTA o Citrato de Sodio (contrastadas a través de la evaluación de la validez diagnóstica) permite hacer mención a lo indicado por Rangel y cols. (2010)¹²⁰ en su trabajo comparativo entre el EDTA y el TFPS para determinar parámetros hematológicos en pacientes con leucemia mieloide crónica, sugiriendo que todos los parámetros medidos (incluido el análisis leucocitario) no presentan diferencias significativas. Por lo tanto, parece ser que los valores alejados de los límites clínicos normales, no se ven influenciados al emplear el Trifosfato Pentasódico como anticoagulante.

Junto a todo lo anterior, indicar que el Trifosfato Pentasódico, durante todo el desarrollo de la investigación, demostró mantener la sangre en estado líquido sin producir interferencias con los reactivos empleados para los análisis hematológicos, siendo esto una condición necesaria para que la sangre pueda ser evaluada correctamente, en especial cuando se trata de sangre sometida a análisis por equipos hematológicos automatizados como el empleado (Sysmex kx-21n) en el presente estudio.

Entonces, sobre la base de los resultados obtenidos, es posible inferir que el Trifosfato Pentasódico de grado técnico tiene varias de las características que debe presentar todo anticoagulante para ser empleado idóneamente en estudios hematológicos, dado que no produce hemólisis, se disuelve fácilmente, no produce efectos sobre la morfología de las células sanguíneas, no es tóxico, se emplea fácilmente en el laboratorio y gracias a su condición industrial es económico. Todas estas características, permiten concluir que el Trifosfato Pentasódico de grado técnico pudiera representar un sustituto idóneo tanto del EDTA como del Citrato de sodio que podría emplearse en el laboratorio clínico como único anticoagulante para realizar la hematología completa y algunas pruebas hemostáticas consideradas en la presente investigación.

¹¹⁹ GONZALES M, CASTILLO Y, *et al.* “Utilidad del Trifosfato Pentasódico en la tipificación de grupos sanguíneos y factor Rh en escolares”. Acta Científica de la Soc Venezolana de Bioanálisis 2007

¹²⁰ RANGEL L. AVENDAÑO E, *et al.* “Estudio comparativo de los parámetros hematológicos de pacientes con leucemia mieloide crónica en muestras tratadas con Trifosfato pentasódico y con EDTA” Rev Cubana de Hematología, Inmunología y Medicina Transfuncional 2010

CONCLUSIONES

Primera.- El efecto anticoagulante del Trifosfato Pentasódico de grado técnico es equivalente al efecto del EDTA Dipotásico para extraer muestras sanguíneas destinadas a ser analizadas en pruebas de Citometría Hemática Completa (recuento de leucocitos, eritrocitos, plaquetas, diferenciación leucocitaria, dosificación de hemoglobina y determinación del hematocrito) manual y automatizada, sin presentar modificaciones significativas en sus resultados, hasta 24 horas después de haberlas extraído.

Segunda.- El efecto anticoagulante del Trifosfato Pentasódico de grado técnico es equivalente al efecto del EDTA Dipotásico para extraer muestras sanguíneas destinadas a ser analizadas en la prueba de la Velocidad de Eritrosedimentación (realizada hasta en 2 horas consecutivas).

Tercera.- El efecto anticoagulante del Trifosfato Pentasódico de grado técnico es equivalente al efecto del Citrato de Sodio para extraer muestras sanguíneas destinadas a ser analizadas en la prueba de la determinación del Tiempo de Protrombina y de la Dosificación de Fibrinógeno. Sin embargo, no es el mismo caso para desarrollar el análisis del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada, pues los resultados demuestran que no son equivalentes.

Cuarta.- Las pruebas de Citometría Hemática Completa a muestras extraídas con Trifosfato Pentasódico de grado técnico, presentan una validez diagnóstica adecuada, con respecto al uso del EDTA Dipotásico. Ello debido a que la sensibilidad y especificidad de cada prueba fue: recuento leucocitario (85.19% y 98.63%), recuento eritrocitario (86.96% y 98.70%), recuento plaquetario (75.00 y 100.00 %), dosificación de hemoglobina (96.55% y 91.55%) y determinación del hematocrito (88.00 y 97.33%).

Quinta.- El análisis de la Velocidad de Eritrosedimentación realizado a muestras extraídas con Trifosfato Pentasódico de grado técnico, presenta una sensibilidad del 100% y una especificidad del 98.89% con respecto al uso del EDTA Dipotásico, siendo indicadores de que posee una validez diagnóstica adecuada.

Sexta.- Los análisis del Tiempo de Protrombina y la Dosificación de Fibrinógeno Plasmático a muestras extraídas con Trifosfato Pentasódico de grado técnico, presentaron una sensibilidad del 95.45% y 95.24%, respectivamente y una especificidad del 97.44% y 97.47%, respectivamente, en comparación al uso del Citrato de Sodio, siendo indicadores de que poseen una validez diagnóstica adecuada.

Séptima.- No pudo determinarse la validez diagnóstica del Tiempo de Tromboplastina Parcial a muestras extraídas con Trifosfato Pentasódico de grado técnico, con respecto al uso del Citrato de Sodio, porque los resultados obtenidos no se prestaron para tal fin.

Octava.- Con todo lo anterior, se puede afirmar que las propiedades anticoagulantes del Trifosfato Pentasódico, aún teniendo un grado técnico, son equivalentes a las propiedades exhibidas por anticoagulantes in vitro tradicionales como el EDTA Dipotásico, para realizar pruebas de Citometría Hemática Completa y la Velocidad de Eritrosedimentación, así como con las propiedades del Citrato de Sodio para ejecutar exámenes de hemostasia, como Tiempo de Protrombina y Dosificación de Fibrinógeno Plasmático. Por lo tanto, su uso como anticoagulante in-vitro estaría recomendado para tales propósitos.

RECOMENDACIONES

Primera.- Se propone analizar los diferentes factores hemostáticos participantes de la vía intrínseca de la coagulación, en plasma proveniente de sangre anticoagulada con Trifosfato Pentasódico de grado técnico a fin de detectar la causa de la ineficiencia de dicho tipo de muestra para realizar la determinación del análisis de Tiempo de Tromboplastina Parcial.

Segunda.- Investigar la utilidad del Trifosfato Pentasódico como anticoagulante para extraer muestras adecuadas consignadas a desarrollar análisis no necesariamente de carácter rutinario, en un laboratorio clínico, como por ejemplo la cuantificación de la Hemoglobina Glicosilada, cuya técnica requiere de sangre anticoagulada con EDTA, o la determinación del Dímero D que requiere de sangre citratada.

Tercera.- Profundizar la evaluación de la validez diagnóstica de diferentes exámenes clínicos efectuados en muestras extraídas con Trifosfato Pentasódico, a través de diseños experimentales individualizados con población específica de estudio.

Cuarta.- Se sugiere realizar un estudio costo-beneficio para establecer cuan económicamente ventajoso resultaría utilizar el Trifosfato Pentasódico de grado técnico en reemplazo del EDTA y el Citrato de Sodio, en el presupuesto de los laboratorios clínicos particulares u hospitalarios, así como el impacto que tendría en el costo de los análisis para sus consumidores.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) **Álvarez Calvo, Jorge.** Bioquímica nutricional y metabólica del bovino en el trópico. Antioquía: Ed. Universidad de Antioquía; 2008
- 2) **Bain Bárbara, Lewis Mitchell.** Dacie y Lewis: Hematología clínica. Décima edición. Madrid: Ed. Elsevier; 2007
- 3) **Bauer John.** Métodos y diagnósticos del laboratorio clínico. Octava edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1989
- 4) **Bennington James.** Diccionario enciclopédico de Laboratorio Clínico. Cuarta edición. Buenos Aires: Editorial Panamericana; 1993
- 5) **Bennett T. Sterling, Lehman Christopher.** Laboratory hemostasis: A practical guide for pathologists. Ed. Springer; 2007
- 6) **Gaddi Eduardo, Chiesa María, Remes Federico.** Métodos del laboratorio hematológico. La Plata: Ed. Universidad de la Plata; 2011
- 7) **García María, Gutiérrez Enrique, Martínez Eduardo.** Fundamentos y técnicas de análisis hematológicos y citológicos. Editex; 2002
- 8) **Gennaro Alfonso.** Remington Farmacia. Vigésima edición. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana; 2003.
- 9) **Gomes Oliveira, Raimundo.** Hemograma - Cómo hacer e interpretar. Medellín: Editorial Amolca; 2012
- 10) **Gonzales de Buitrago, José.** Técnicas y métodos de laboratorio clínico. Segunda edición. Madrid: Ed. Elsevier; 2004
- 11) **Housecroft Catherine, Sharpe Alan.** Química Inorgánica. Segunda edición. Madrid: Ed. Pearson; 2006

- 12) **Huheey James, Keiter Ellen, Keiter Richard.** Química Inorgánica: Principios De Estructura Y Reactividad. Cuarta edición. México D.F.: Oxford University; 2005
- 13) **Kitchen Steve, McCraw Angus.** Manual de Laboratorio: Diagnóstico de la hemofilia y otros trastornos de la coagulación. Segunda Edición. Montreal: WFH; 2010
- 14) **Lynch Matthew, Stanley Raphael, Mellor Leslie, et al.** Métodos de laboratorio. Segunda edición. México: Nueva Editorial Interamericana; 1977
- 15) **Mcperson Richard, Pincus Matthew.** Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. Vigésimo primera edición. Philadelphia; Saunders Elsevier; 2007
- 16) **Mejía Gilberto, Ramelli Mauricio.** Interpretación clínica del Laboratorio. Séptima edición. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana; 2006
- 17) **Miale John.** Hematología: Medicina de laboratorio. Barcelona: Ed. Reverte; 1985
- 18) **Ministerio de Salud del Perú - Instituto Nacional de Salud.** “Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología”. Serie de Normas Técnicas 2005; 40:22-30
- 19) **Moran Villatoro Luis.** Obtención de muestras sanguíneas de calidad analítica: Mejoría continua de la etapa preanalítica. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana; 2001
- 20) **Permanyer Maciá Juan.** La velocidad de sedimentación globular. Barcelona: Ed. Rústica; 1974
- 21) **Rodak Bernadette.** Hematología: Fundamentos y aplicaciones clínicas. Segunda Edición. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana; 2005

- 22) **Ruiz Arguelles Guillermo.** Fundamentos De Hematología. Cuarta edición. Buenos Aires: Ed. Panamericana; 2003
- 23) **Sabán Ruiz José.** Control global del riesgo cardiometabólico. Madrid: Ed. Díaz de Santos; 2009
- 24) **Silva María, García José.** Manual del técnico de laboratorio de análisis clínicos. Sevilla: Ed. Mad;2004
- 25) **Shriver D., Atkins P., Langford C.** Química Inorgánica. Barcelona: Ed. Reverte; 1998
- 26) **Suardíaz Jorge, Cruz Celso, Colina Ariel.** Laboratorio Clínico. Segunda edición. La Habana: Ed. Ciencias médicas; 2004
- 27) **Vives Corrons Joan.** Manual de técnicas de laboratorio en hematología. Tercera edición. Madrid: Ed. Elsevier; 2006
- 28) **Williams W. Beutler E. Wayne E.** Hematología. Segunda edición. Barcelona: Ed. Salvat; 1983

HEMEROGRAFIA

- 1) **Bagunt T, Luddington R.** “Reliability of delayed INR determination: implications for decentralised anticoagulant care with off-site blood sampling”. *British Journal Haematology* 1997; 96:431-4
- 2) **Banfi G. Salvagno G.** “The role of ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) as in vitro anticoagulant for diagnostic purposes”. *Clinical Chemical Laboratory Medicine* 2007; 45(5):565–576
- 3) **Bath Philip Michael.** “The routine measurement of platelet size using sodium citrate alone as the anticoagulant”. *Thrombosis and haemostasis* 1993; 70:687-690.
- 4) **Díaz A, Almagro D, Brito A.** “Sensibilidad del tiempo parcial de tromboplastina activado a la deficiencia de factores VIII y XI y a la heparina”. *Revista Cubana Hematología Inmunología Hemoterapia* 2001; 17(1):41
- 5) **Duboscq C, Kordich L.** “Efecto de la concentración de citrato de sodio sobre las pruebas de hemostasia” *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana* 2005; 39 (1): 87-92
- 6) **Emeribe A. Ukonu G.** “Comparative study of erythrocyte sedimentation rate using three diluents”. *Journal of Medical Laboratory Science* 1992; 2:41–44.
- 7) **Giner M, Siso A.** “Utilidad de la VSG en atención primaria”. *JANO* 2006; 1622:55-57
- 8) **González M, Castillo Y, Fernández D. et al.** “Utilidad del Trifosfato Pentasódico en la tipificación de grupos sanguíneos y factor Rh en escolares”. *Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanálisis* 2007; 10 (2): 91-95
- 9) **Goossens W, Van Duppen V, Verwilghen R.** “K2-or K3-EDTA: the anticoagulant of choice in haematology?”. *Clinical Lab Haematology* 1991; 13: 291-295
- 10) **Horsti Juha** “Prothrombin time: Evaluation of Determination Methods”. *Hematology reports* 2002; 1(2):17-25

- 11) **International Committee for Standardization in Haematology & International Committee on Thrombosis and Haemostasis.** “Recommendations for reporting prothrombin time in oral anticoagulant control”. *Scandinavian Journal of Haematology* 1984;33:397-398

- 12) **International Council for Standardization in Haematology.** “Recommendations of the International Council for Standardization in Haematology for ethylenediaminetetraacetic acid anticoagulation of blood for blood cell counting and sizing”. *American Journal of Clinical Pathology* 1993; 100:371-372

- 13) **Kumura T, Masayuki H, Yamane T,** “Hirudin as an anticoagulant for both haematology and chemistry test”. *Journal of Automated Methods & Management in Chemistry* 2000; 22(4):109-122

- 14) **Lemus M, Villaseñor A.** “Determinación de la velocidad de sedimentación globular”. *Enfermedades infecciosas y microbiología* 2009; 29(2):66-69.

- 15) **Mamdooh Abdullah Gari.** “The Comparison of Glass EDTA Versus Plastic EDTA Blood-Drawing Tubes for Complete Blood Count”. *Middle-East Journal of Scientific Research* 2008; 3: 32-35

- 16) **Mitsuo N, Masayuki H, Takayuki T.** “Analogues of Ethylenediaminetetraacetic Acid and Sodium Fluoride as Anticoagulants”. *Osaka City Medical Journal* 2000; 46: 71-87.

- 17) **Narayanan, S.** “Effects of anticoagulants used at blood specimen collection on clinical test results”. *Rinsho Byori* 1996, 103: 73-91

- 18) **Rangel L. Quintero M. Archile A. et al.** “Evaluación de un nuevo anticoagulante para pruebas hematológicas de rutina”. *Revista Cubana Hematología, Inmunología, Hemoterapia* 2009; 25(2): 34-44

- 19) **Rangel L. Quintero M. Archile A. et al.** “Evaluación del tripolifosfato de sodio como anticoagulante en determinaciones hematológicas en ser humanos”. Revista Cubana Hematología, Inmunología, Hemoterapia 2009; 25(2): 34-44
- 20) **Ruiz Bedolla Eliseo.** “Valoración del citrato dextrosa fosfato como anticoagulante para efectuar la biometría hemática”. Revista mexicana de Patología Clínica 1995; 42(3): 119-121.
- 21) **Ruzicka K. Veitl.** “The new hematology analyzer Sysmex XE-2100”. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 2001; 125: 391-396
- 22) **Salazar P. Lidiette.** “Velocidad de sedimentación globular: de vuelta Westergreen”. Revista médica de Costa Rica y Centroamérica 2000; 6:552
- 23) **Tsuji R, Tatsumi N, Hino M, et al.** “Tissue factor pathway inhibitor as a universal anticoagulant for use in clinical laboratory tests”. Tohoku Journal Experimental Medicine 2001; 194(3):165-74.



INFORMATOGRAFIA

- 1) **Acedo M. Antonio.** “Aspectos técnicos de la anticoagulación oral” 2008, en:
[<http://www.neurologia.rediris.es/congreso-1/conferencias/h-general-4.html>]. Acceso 2 de julio del 2012
- 2) **Cichanowski Tommy.** “The EDTA Story: Using Disodium EDTA as an Anionic Surfactant” 2012, en: [<http://customers.hbci.com/~wenonah/riddick/edta.htm>]. Acceso 23 de junio del 2012
- 3) **De La Peña Adolfo.** “Cambios físicos” 2012, en: [<http://adolfoneda.com/cambios-fisicos>]. Acceso 21 de agosto 2012
- 4) **Frey M. De Tullio L.** “Impacto ambiental de productos químicos auxiliares usados en la industria textil argentina” Proyecto de la CEPIS/OPS, 1998. Acceso 28 de mayo del 2012
- 5) **Mateo C. Rafael.** “Análisis clínicos hematológicos de rutina” 2011, en: [<http://www.emagister.com/analisis-clinicos-hematologicos-rutina-cursos-2334900.htm>]. Acceso 11 de junio 2012
- 6) **Kremer E, Sienna B.** “Cátedra de Química Inorgánica: Práctica 9” 2011, en: [http://dec.fq.edu.uy/catedra_inorganica/inorganica/practica9.pdf]. Acceso 30 de agosto del 2012
- 7) **Romero S. Hildebrando.** “Citometría hemática automatizada” 2009, en: [<http://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articles/1662>]. Acceso 10 de junio 2012
- 8) **Scribd.** “Manual de Quelación” 2011, en: [<http://es.scribd.com/doc/47428539/Manual-de-Quelacion>]. Acceso 28 de agosto 2012.
- 9) **Sigma-Aldrich.** “Sodium tripolyphosphate MSDS” 2011, en: [<http://www.sigmaaldrich.com>] Acceso 15 de mayo del 2012

- 10) **US Food and Drug Administration.** “Sodium tripolyphosphate”, en:
[<http://www.accessdata.fda.gov>]. Acceso 12 de Julio 2012

- 11) **Tripoliven.** “Tripolifosfato de Sodio - Hoja de Seguridad”, en:
[<http://www.tripoliven.com>]. Acceso 9 de agosto del 2012

- 12) **Wikipedia Enciclopedia.** “Acido etilendiaminotetracético” 2012, en:
[http://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_etilendiaminotetraac%C3%A9tico]. Acceso
13 de agosto 2012.

- 13) **Wikipedia encyclopedia.** “Sodium Triphosphate” 2012, en:
[http://en.wikipedia.org/wiki/Sodium_triposphate]. Acceso 13 de agosto 2012



TESIS

- 1) **Alas R. Tania, García F. Delmy, Retana M. Carmen.** “Análisis comparativo del método de Wintrobe y el método de Westergren en pacientes de del Hospital Nacional Zacamil”. [Tesis para optar licenciatura en Laboratorio Clínico]. Universidad del Salvador; 2010
- 2) **Méndez Angulo José.** “Evaluación clínica de la coagulación por tromboelastografía en la especie equina” [tesis doctoral] Universidad de Córdoba; 2011
- 3) **Teresita Benzzo María.**”Determinación objetiva del color en la elaboración de pastas modelo de embutidos crudo-curados”. [tesis para optar Magíster en tecnología de alimentos]. Argentina: Universidad Nacional del Litoral; 2005

CONFERENCIAS

- 1) **Blanco María Jesús,** “Hemostasia y trastornos hemorrágicos” conferencia dictada en el Hospital Universitario La Paz-Madrid, 2007
- 2) **Ruiz O. Adriana,** “Coagulación–anticoagulación” conferencia dictada en el Congreso Coagulación: La perspectiva desde el laboratorio clínico para su evaluación. México 2011
- 3) **Guerrero G. Sofía,** “Estudio de surfactantes y su implicancia en el proceso de obtención de agua potable en la planta de SEDAPAL-la Atarjea” XXVIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental México 27-31 octubre 2002
- 4) **Barbón F. Marcos,** “Hematimetría: Del microscopio al análisis multiparamétrico” conferencia dictada en el Curso General de Hematimetría de León 14-15 diciembre 2007.



ANEXO N° 1

RANGOS DE REFERENCIA
PARA LOS ANÁLISIS CLÍNICOS CONSIDERADOS EN EL ESTUDIO

EXAMEN CLINICOS	HOMBRE	MUJER	Unidades
	CITOMETRIA HEMATICA COMPLETA		
SERIE BLANCA			
Recuento Leucocitario	5 - 10		miles/ μ L
Neutrófilos Segmentados	45 - 65		%
Neutrófilos Abastoados	0 - 5		%
Eosinófilos	0 - 5		%
Basófilos	0 - 2		%
Monocitos	2 - 10		%
Linfocitos	25 - 45		%
SERIE ROJA			
Recuento eritrocitario	4.3 - 5.8	3.8 - 5.2	millones/ μ L
Hemoglobina	14-18	12-16	g/dL
Hematocrito	42 - 52	37 - 48	%
SERIE PLAQUETARIA			
Recuento plaquetario	150 - 450		miles/ μ L

VELOCIDAD DE ERITROSEDIMENTACION

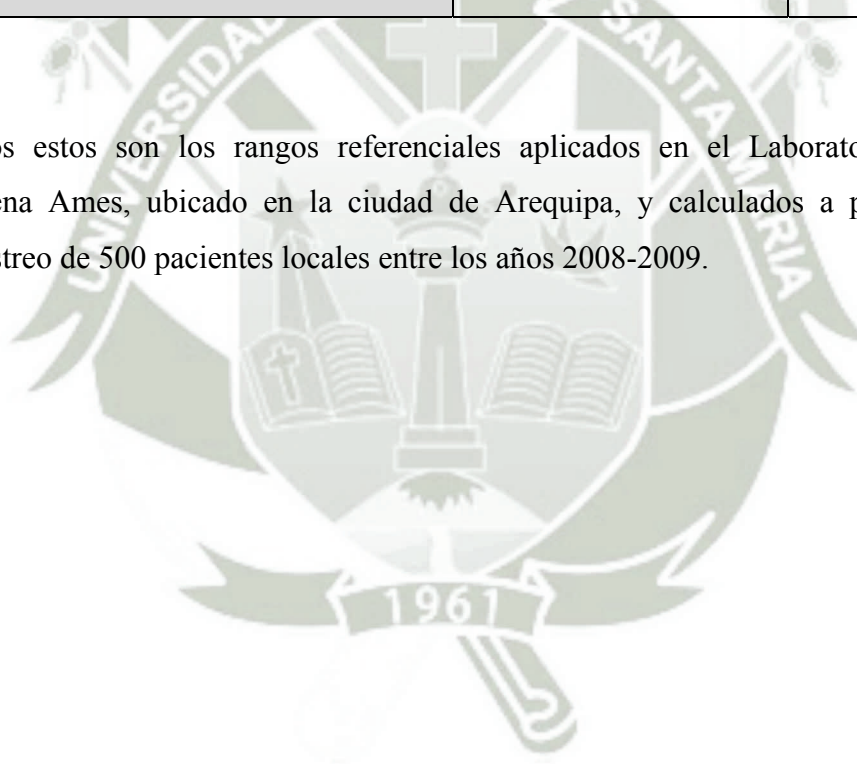
V. de Eritrosedimentación	0 - 10	0 - 15	mm/hora
----------------------------------	--------	--------	---------

EXAMENES CLINICOS	HOMBRE	MUJER	Unidades
--------------------------	---------------	--------------	-----------------

PERFIL DE COAGULACION

Tiempo de Protrombina	12 – 14	seg
Actividad Protrombínica	80 - 100	%
Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada	31 - 42	seg
Dosificación de Fibrinógeno	200 - 400	mg/mL

Todos estos son los rangos referenciales aplicados en el Laboratorio Clínico Llerena Ames, ubicado en la ciudad de Arequipa, y calculados a partir de un muestreo de 500 pacientes locales entre los años 2008-2009.



16E	H	24	5,25	5,45	5,6	5,3	5,61	5,72	5,61	5,61	5,61	16,7	16,4	16,1	16,2	51	52	51	179	171	156	174	9	21
16T			5,7	5,85	5,8	5,9	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	17	17,1	16,7	17	50	50	50	172	167	158	159	7	18
17E	M	26	5,05	4,9	4,8	4,85	4,95	4,84	4,84	4,84	4,84	15,8	15,3	16	15,4	45	44	44	246	231	230	224	5	13
17T			5,2	5,25	5	4,9	4,73	4,73	4,73	4,62	4,62	15,7	15,6	15,2	15,5	43	43	42	239	245	236	236	5	14
18E	M	37	5,35	5,4	5,1	5,25	5,06	4,95	4,95	4,95	4,95	16,3	15,9	16,2	16,4	46	45	45	190	185	179	173	10	24
18T			5,9	5,35	5,7	5,55	4,84	4,84	4,73	4,73	4,73	16,8	16,2	16,5	15,9	44	44	43	181	176	178	169	12	25
19E	H	35	5,5	4,95	5,6	5,75	5,61	5,39	5,5	5,5	5,5	16,6	17,5	17,2	16,9	51	49	50	271	216	230	247	4	8
19T			5,6	5,4	5,25	5,4	5,39	5,28	5,28	5,28	5,28	17	16,9	16,9	16,5	49	48	48	248	259	245	265	5	12
20E	M	25	4,2	4,65	4,45	4,2	3,52	3,52	3,52	3,3	3,3	10,7	10,4	10,2	10,2	32	32	30	179	171	156	147	24	38
20T			4,4	4,55	4,3	4,35	3,63	3,41	3,3	3,3	3,3	10,5	10,7	10,1	10,1	33	31	30	172	167	158	159	27	40
21E	H	32	4,95	5,2	5,5	5,15	5,83	5,94	5,83	5,83	5,83	14,4	15,3	15,4	15,9	53	54	53	210	222	212	199	4	8
21T			5,4	6,1	5,5	5,25	5,83	5,72	5,72	5,72	5,72	15,5	16,6	16,1	16,8	53	52	52	207	209	202	208	5	9
22E	H	18	5	5,25	5,05	4,9	5,5	5,61	5,61	5,5	5,5	15,3	16	16,1	16,2	50	51	51	235	217	229	222	4	11
22T			5,3	5,55	5,7	5,4	5,39	5,28	5,28	5,17	5,17	16,5	15,3	16,7	17,4	49	48	47	228	241	216	202	4	10
23E	H	45	8,75	9,2	8,9	8,9	5,5	5,28	5,39	5,28	5,28	17,2	16,7	16,8	16,8	50	48	49	256	260	243	245	1	3
23T			9,65	9,5	9,35	9,4	5,28	5,06	5,28	5,17	5,17	17,9	17,7	17,8	17,4	48	46	48	245	239	217	228	1	4
24E	H	44	4,4	3,9	4,35	4,3	5,5	5,5	5,61	5,5	5,5	15,5	16	15,8	15,5	50	50	51	183	185	167	171	1	3
24T			4,85	5,1	5,2	4,95	5,5	5,39	5,39	5,39	5,39	16,6	16,6	16,3	16,4	50	49	49	190	181	175	175	2	6
25E	H	28	7,25	7,6	7,4	7,55	5,72	5,72	5,83	5,72	5,72	16,6	15,8	15,8	16,1	52	52	53	354	352	331	318	2	5
25T			8	8,35	7,75	7,9	5,5	5,61	5,61	5,61	5,61	16,9	16,6	17	17,1	50	51	51	361	360	356	325	3	8
26E	M	30	4,1	4,65	3,95	4,2	5,06	5,06	4,95	4,95	4,95	15,5	14,8	15,2	14,5	46	46	45	217	248	210	218	4	11
26T			4,35	4	4,2	4,05	4,84	4,95	4,95	4,95	4,95	15,9	15,4	14,6	14,8	44	45	45	231	212	206	197	6	13
27E	H	32	6,55	6,6	6,35	6,45	5,61	5,5	5,5	5,39	5,39	17,9	17,6	18,2	18,3	51	50	50	188	164	148	170	1	4
27T			7,05	7,2	6,65	6,85	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	19	18,9	19	18,6	50	50	50	155	167	157	165	2	6
28E	H	27	5,8	5	5,6	5,8	7,7	7,59	7,59	7,48	7,48	23,3	22,5	23,1	23,5	70	69	68	175	162	165	154	1	2
28T			7,1	6,25	6,5	5,95	7,59	7,48	7,48	7,37	7,37	23,9	23,9	23,6	23,3	69	68	67	194	199	182	176	1	2
29E	M	23	4,45	4,15	4,4	4,1	5,06	4,95	4,95	4,95	4,95	15,6	16,6	16,2	16,4	46	45	45	167	200	198	192	13	27
29T			4,8	4,55	4,6	4,65	4,95	4,84	4,84	4,84	4,84	16,2	16,3	16,2	16,6	45	44	44	205	182	177	186	15	31
30E	H	20	5,15	4,95	5	4,8	5,28	5,39	5,28	5,28	5,28	15,7	16,4	16,5	16,9	48	49	48	208	168	185	173	2	6
30T			5,3	5,15	5,1	5	5,17	5,17	5,06	5,06	5,06	16,4	16,3	16,4	16	47	47	46	192	174	167	162	3	7
31E	M	33	5,5	5,25	5,05	5,3	4,62	4,51	4,51	4,51	4,51	13,4	13,5	13,7	13,6	42	41	41	258	238	222	229	2	5
31T			6,1	6,45	5,8	6,05	4,4	4,4	4,4	4,29	4,29	13,7	13,9	13,8	13,8	40	40	40	39	250	217	220	2	5
32E	H	38	5,85	5,3	5,3	5,7	5,28	5,28	5,17	5,28	5,17	15,1	15,5	15	15,8	48	48	47	173	160	169	155	16	31
32T			6,45	6,3	5,9	6,1	5,06	5,06	5,06	5,06	5,06	16	15,7	15,9	15,5	46	46	46	161	170	172	163	16	31
33E	H	21	5,3	5,3	4,85	5	5,61	5,72	5,61	5,61	5,61	17,4	17,5	17,6	17,6	51	52	51	189	168	149	131	2	12
33T			5,45	4,9	4,75	4,6	5,5	5,61	5,61	5,61	5,61	17,9	17,8	17,8	17,6	50	51	51	156	152	142	154	3	13
34E	H	29	6,4	6,7	5,95	6,4	6,27	6,16	6,16	6,27	6,27	21,3	20,1	20,5	19,3	57	56	56	263	282	238	250	3	5
34T			6,4	5,85	6,55	6,8	5,94	5,94	5,94	5,94	5,94	20	20,5	20,1	19,2	54	54	54	275	271	254	243	4	8
35E	M	26	5,7	5,85	5,3	5,55	5,17	5,17	5,06	5,06	5,06	15,8	15,7	15,7	15,6	47	47	46	224	217	232	220	5	11
35T			6,35	6,5	6,05	6,2	5,06	4,95	4,95	4,95	4,95	16,3	16,5	16,2	15,9	46	45	45	206	214	198	189	6	12
36E	H	30	8,9	9,25	9,05	8,7	5,72	5,61	5,72	5,72	5,72	17,5	17,5	17,7	17,7	52	51	52	290	275	278	259	3	9
36T			9,75	9,35	9,9	9,55	5,61	5,61	5,5	5,61	5,5	17,7	17,5	17,4	17,5	51	51	50	301	281	276	283	3	7
37E	H	25	5	4,7	4,95	5,2	5,5	5,39	5,39	5,39	5,39	17,2	17,3	17,5	17	50	49	49	295	312	278	280	1	3

ANEXO N°5
MATRIZ DE DATOS "B"

MATRIZ DE DATOS - B
MUESTRAS EXTRAIDAS CON EDTA Y TRIFOSFATO PENTASODICO
CITOMETRIA HEMATICA MANUAL

DIFERENCIACION LEUCOCITARIA (%)

N°	N. Abastionados			N. Segmentados			Eosinófilos			Basófilos			Monocitos			Linfocitos									
	0H	6H	12H	24H	0H	6H	12H	24H	0H	6H	12H	24H	0H	6H	12H	24H	0H	6H	12H	24H					
	1E	2	1	2	4	60	63	61	59	0	1	2	1	1	1	0	0	1	13	9	10	8	24	25	25
1T	1	2	3	2	62	60	59	59	2	2	1	2	2	0	0	0	0	11	11	10	9	24	25	27	28
2E	4	5	4	3	72	66	69	66	0	1	1	1	2	0	0	0	0	5	8	5	5	19	20	21	24
2T	3	5	3	1	68	70	70	72	2	1	1	1	1	0	0	0	0	6	6	6	4	21	18	20	22
3E	2	2	4	4	53	57	56	55	2	2	2	2	2	0	0	0	0	10	8	4	5	33	31	34	34
3T	3	3	2	3	50	55	54	56	2	3	1	1	1	2	0	1	1	7	10	6	6	36	29	36	33
4E	0	0	3	3	63	65	59	61	4	3	3	3	3	0	0	0	0	6	6	5	6	27	26	30	27
4T	1	1	2	2	65	61	58	57	2	2	0	0	0	1	0	0	0	9	9	5	6	22	27	35	35
5E	1	1	3	4	56	54	52	53	3	2	1	1	1	1	1	0	1	5	7	4	5	34	35	40	36
5T	0	1	4	4	53	53	49	50	1	2	2	1	1	0	1	1	0	8	8	3	4	38	35	41	41
6E	3	1	2	3	57	62	54	56	2	1	1	1	0	0	0	0	0	9	9	8	6	29	27	35	35
6T	2	1	2	5	60	63	60	55	1	3	2	1	1	1	1	1	0	8	7	5	6	28	25	30	33
7E	1	1	2	2	35	38	33	32	1	2	2	2	2	0	0	0	0	5	3	2	2	58	56	61	62
7T	2	1	1	2	42	43	39	42	2	2	1	1	1	1	0	0	0	6	5	5	2	47	49	54	53
8E	0	1	1	2	62	53	57	56	1	1	1	1	0	0	0	0	0	13	8	9	10	24	37	32	32
8T	1	0	0	3	54	55	51	50	1	2	0	1	1	0	0	0	0	12	11	10	8	33	32	39	38
9E	0	1	2	2	74	72	72	76	1	1	2	0	0	0	0	0	0	5	4	5	5	20	22	19	17
9T	1	0	1	1	76	74	76	78	0	1	1	1	1	0	0	0	0	7	3	4	2	16	22	18	18
10E	2	0	4	4	45	52	47	43	5	2	3	3	2	0	0	1	1	8	10	8	5	40	36	37	45
10T	1	1	3	5	45	47	42	40	4	4	4	4	3	1	1	1	1	8	4	5	5	41	43	45	46
11E	1	1	3	6	48	45	46	45	1	1	2	2	2	2	1	1	1	5	6	5	4	43	46	43	42
11T	0	0	1	3	52	50	45	47	0	1	1	1	1	0	0	1	0	7	5	3	3	41	44	49	46
12E	0	0	0	1	48	50	43	43	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	6	5	4	44	44	52	52
12T	1	0	2	4	46	44	42	39	0	2	1	1	1	0	0	0	0	5	4	4	7	48	50	51	49
13E	0	0	0	3	62	63	60	63	10	9	11	8	8	3	2	2	1	7	9	8	5	18	17	19	20
13T	0	1	2	3	63	62	65	61	10	11	10	10	10	3	3	2	3	5	6	6	6	19	17	15	17
14E	1	1	3	2	66	71	62	64	2	2	2	2	0	1	1	0	0	6	4	5	4	24	21	28	30
14T	0	0	2	1	70	69	66	62	3	2	2	2	2	0	0	0	0	4	5	3	4	23	24	27	31

58E	0	1	1	1	1	56	59	59	61	2	5	5	3	0	0	0	0	0	0	0	4	5	5	37	30	30	31
58T	1	0	2	4	3	56	57	54	53	3	4	3	2	2	1	1	0	0	0	0	6	5	3	32	33	37	35
59E	2	0	3	2	3	58	60	60	61	3	3	2	1	0	0	0	1	0	0	7	5	5	30	32	30	31	
59T	4	2	4	3	2	59	62	58	58	1	2	2	2	1	0	1	1	0	0	8	4	4	27	30	31	32	
60E	2	3	2	5	4	42	45	37	42	4	3	4	2	1	1	1	1	1	0	7	9	5	44	39	51	46	
60T	0	2	4	4	3	47	50	45	44	3	4	3	3	0	0	1	0	0	0	11	8	8	39	36	39	44	
61E	0	3	3	4	2	70	69	67	69	1	2	2	2	0	0	0	0	0	0	5	5	3	24	21	25	23	
61T	0	0	4	5	2	68	67	65	62	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	4	6	3	26	25	27	29	
62E	1	0	1	1	3	52	53	50	53	3	2	2	2	1	0	1	0	0	0	4	7	4	39	38	42	41	
62T	0	0	1	1	2	49	50	44	45	2	2	1	0	1	1	1	0	0	0	5	5	4	43	42	49	51	
63E	1	1	2	3	3	61	68	64	60	1	3	1	1	1	1	0	0	0	0	5	5	5	31	22	28	34	
63T	0	1	2	2	3	65	67	64	63	3	2	2	2	0	0	0	0	0	0	4	4	2	28	26	30	30	
64E	7	9	10	10	2	46	42	40	43	2	0	1	1	0	0	0	0	0	0	3	5	2	42	44	47	44	
64T	8	8	9	7	4	44	45	42	43	1	2	2	1	0	0	0	0	0	0	4	4	4	43	41	43	46	
65E	0	0	2	2	0	50	49	43	44	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	9	7	8	40	46	45	46	
65T	0	0	1	2	2	50	51	54	56	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	10	11	9	39	36	35	36	
66E	2	2	4	4	2	52	57	56	55	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	11	8	4	33	31	34	34	
66T	3	3	2	3	3	50	55	54	56	2	3	1	1	1	0	1	1	0	0	9	10	6	35	29	36	32	
67E	0	0	1	1	2	54	58	57	59	1	2	1	1	1	0	0	0	0	0	6	8	6	38	32	35	34	
67T	0	0	0	1	2	55	60	57	57	1	2	2	2	1	0	0	0	0	0	9	7	8	34	31	33	37	
68E	0	0	1	1	1	49	45	43	48	1	3	3	3	2	2	2	1	1	0	17	18	15	31	32	36	37	
68T	1	1	2	4	2	46	49	51	48	2	3	2	2	2	2	1	2	1	0	15	14	13	34	31	31	33	
69E	2	3	4	4	3	42	41	45	40	3	2	3	2	0	1	1	1	0	0	8	8	4	45	45	43	48	
69T	2	2	3	3	4	44	46	44	44	5	4	5	5	1	0	1	1	0	0	6	7	3	42	41	44	43	
70E	10	15	15	19	1	38	36	38	34	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	5	3	3	46	46	43	45	
70T	12	15	13	18	0	41	40	40	37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	4	3	42	41	44	42	
71E	1	1	3	3	2	52	52	53	52	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	9	7	3	38	39	40	40	
71T	0	1	1	2	2	54	55	56	54	2	1	0	1	1	1	0	0	0	0	5	6	3	38	36	40	40	
72E	2	1	2	3	1	64	62	65	61	1	1	1	2	0	0	0	0	0	0	6	8	6	27	28	26	30	
72T	2	2	3	5	0	65	63	58	60	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	8	6	7	25	28	32	31	
73E	1	3	2	3	2	54	52	52	55	2	2	1	1	1	0	0	0	0	0	6	3	3	36	40	42	39	
73T	0	0	2	2	2	54	55	50	51	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	3	3	2	42	41	45	45	
74E	0	0	1	2	2	65	68	65	64	2	2	2	2	1	1	1	1	0	0	8	7	5	24	22	26	26	
74T	1	0	3	2	3	67	70	62	63	3	1	2	2	1	0	0	0	0	0	7	4	5	21	25	28	26	
75E	2	0	1	4	0	65	65	67	61	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	6	9	5	27	25	26	28	
75T	0	1	1	1	2	64	68	62	60	2	1	2	0	0	0	0	0	0	0	8	7	5	26	23	30	34	
76E	3	2	3	3	3	65	68	64	64	3	1	3	3	1	1	0	0	0	0	3	4	3	25	24	27	27	
76T	1	3	4	3	3	66	63	61	62	3	3	2	2	0	0	0	0	0	0	3	5	3	27	26	30	30	
77E	1	1	2	4	1	50	52	51	47	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	7	6	7	41	40	40	44	
77T	2	2	2	3	0	48	50	47	45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	6	4	44	42	47	48	
78E	0	1	3	3	3	50	48	46	44	3	6	4	5	1	1	1	1	0	0	10	8	6	36	36	40	41	
78T	1	0	2	2	4	47	49	47	45	4	5	4	4	0	1	0	0	0	0	8	6	4	40	39	43	43	
79E	0	0	0	0	1	49	52	47	49	2	0	2	1	1	1	1	1	0	0	7	9	9	41	38	41	43	

ANEXO N°6

TABLAS DE REGISTROS

MATRIZ DE DATOS - C																		
MUESTRAS EXTRAIDAS CON EDTA DIPOTASICO																		
N°	Sx	Ed	CITOMETRIA HEMATICA AUTOMATIZADA															
			LEUCOCITOS (miles/ μ L)		DIFERENCIACION LEUCOCITARIA (%)			ERITROCITOS (millones/ μ L)		HEMOGLOBINA (g/dL)		HEMATOCRITO (%)		PLAQUETAS (miles/ μ L)				
			0H	24H	Neutrófilos	Linfocitos	Población Mixta	0H	24H	0H	24H	0H	24H	0H	24H			
1E																		
1T																		
2E																		
2T																		
3E																		
3T																		
.																		
.																		
.																		
100E																		
100T																		

N°: Número de muestra ; **Sx**: Sexo ; **Ed**: Edad ; **E**: Muestra extraída con EDTA ; **T**: Muestra extraída con Trifosfato Pentasódico ; Población Mixta (Eosinófilos, Basófilos, Monocitos) ; **0H**: Análisis al momento de la extracción ; **6H**: Análisis pasadas las 6 horas desde la extracción) ; **12H**: Análisis pasadas las 12 horas desde la extracción ; **24H**: Análisis pasadas 24 horas desde la extracción

ANEXO N°7

MATRIZ DE DATOS "C"

MATRIZ DE DATOS - C
MUESTRAS EXTRAIDAS CON EDTA DIPOTASICO Y TRIFOSFATO PENTASODICO

CITOMETRIA HEMATICA AUTOMATIZADA

Nº	Sx	Ed	LEUCOCITOS (miles/ μ L)		DIFERENCIACION LEUCOCITARIA (%)				ERITROCITOS (millones/ μ L)		HEMOGLOBINA (g/dL)		HEMATOCRITO (%)		PLAQUETAS (miles/ μ L)			
			OH	24H	Neutrófilos	Linfocitos		Población Mixta		OH	24H	OH	24H	OH	24H	OH	24H	
						OH	24H	OH	24H									
1E	H	30	5,6	5,6	55,6	57,2	39,8	39,3	4,6	3,5	5,39	5,34	16,5	16,6	47	46,6	217	212
1T			5,9	5,8	55,4	52,9	40,4	44,2	4,2	2,9	5,42	5,44	16,8	16,9	47,6	47,8	219	215
2E	M	28	8,4	8,3	69,6	72,6	24,5	24	5,9	3,4	5,13	5,16	15,3	15,3	43,1	43,2	341	347
2T			8,7	8,5	70	68,5	23,7	26,2	6,3	5,3	5,24	5,24	15,7	15,7	44,2	44,5	370	364
3E	H	46	5,9	6	50,9	53,1	44,1	42,7	5	4,2	6,05	6,03	17,2	17,3	49,9	49,6	205	197
3T			6	6	51	52,2	44,9	45,6	4,1	2,2	6,15	6,19	17,9	18,1	50,6	50,9	199	203
4E	H	36	7,7	7,6	72	72,3	21,1	22,7	6,9	5	5,56	5,55	17,9	17,9	49,4	49,6	229	225
4T			7,9	7,6	71,1	73,4	21	21,3	7,9	5,3	5,6	5,55	18,1	18	49,8	50,1	238	230
5E	H	53	8,7	8,7	65,3	66,5	25,9	29	8,8	4,5	5,22	5,24	17,2	17,2	50	50,5	261	255
5T			8,6	8,5	66,6	65,6	26,5	29,2	6,9	5,2	5,31	5,3	17,8	17,9	50,6	50,6	245	248
6E	H	24	5,3	5,1	57,9	59,2	31,1	34,5	11	6,3	4,89	4,85	15,7	15,9	42,9	42,5	205	209
6T			5,5	5,4	63,5	64,2	29,5	31,4	7	4,4	4,95	4,96	16,2	16,5	43,5	44,1	241	225
7E	H	36	7,3	7,3	49,8	51,5	45,5	46,4	4,7	2,1	5,22	5,22	15,7	15,8	44,4	44,6	257	253
7T			7,6	7,3	52,9	50,1	44,1	47,3	3	2,6	5,3	5,35	16,3	16,3	45,1	45,3	278	270
8E	H	23	5,4	5,5	47,8	50,2	44,7	45,5	7,5	4,3	5,38	5,33	16,8	16,8	46,8	46,2	188	185
8T			5,9	6	49,8	52,7	41,4	41,9	8,8	5,4	5,43	5,43	17,4	17,2	47,8	48	192	186
9E	H	29	4,6	4,5	53,9	54,4	37,8	40,1	8,3	5,5	5,89	5,91	18	18	50	50,3	174	172
9T			4,8	4,6	54	52,8	38,4	40,5	7,6	6,7	6,05	6,09	18,4	18,7	51,1	51,5	185	174
10E	H	42	12	12,1	70,8	72,5	19,4	20,1	9,8	7,4	7,1	7,12	13,4	13,5	42,8	43,2	380	386
10T			12,4	12,3	70,2	70,6	19,9	21,4	9,9	8	7,19	7,15	14,1	14,3	44,1	44,2	373	367

11E	H	34	5,9	6	51,9	54,3	39,6	40,3	8,5	5,4	5,49	5,45	17,3	17,4	49,7	49,4	229	224
11T			5,9	5,8	54,2	55,7	38,9	39,5	6,9	4,8	5,51	5,56	17,3	17,4	50,2	50	227	238
12E	M	22	4	4,1	55	55,7	31,8	35,4	13,2	8,9	5,19	5,22	16,3	16,5	46,1	46,1	321	316
12T			4,3	4	58,9	60,2	29,4	30,2	11,7	9,6	5,32	5,34	16,8	16,8	47,6	47,3	343	335
13E	M	25	6,1	6,3	42,7	42,9	41,2	43,6	16,1	13,5	4,81	4,77	15,1	15,2	42,8	42,7	249	240
13T			6,5	6,5	43,8	45	40,5	42,2	15,7	12,8	4,95	4,9	15,4	15,7	43,5	43,7	239	243
14E	H	29	7,7	7,7	62,2	62,5	31,3	32,1	6,5	5,4	5,57	5,54	16,2	16,2	47,6	47,1	427	430
14T			8	7,8	60,7	58,2	31,1	33,7	8,2	8,1	5,64	5,67	16,7	16,9	48,7	49,1	440	433
15E	H	39	5,6	5,7	48,5	49,4	35,7	37,1	15,8	13,5	5,53	5,52	17,3	17,5	49,7	49,5	194	188
15T			5,6	5,4	50	49,4	33,6	37,1	16,4	13,5	5,56	5,53	17,5	17,4	50	50	178	192
16E	M	29	4,8	4,7	45,7	46,3	46	48,3	8,3	5,4	5,23	5,18	15,5	15,6	45,1	45	176	172
16T			5,1	5,2	45	46,1	46	47,4	9	6,5	5,18	5,22	15,6	15,9	45,7	45,8	162	165
17E	H	21	5,7	5,9	65,6	67	28	28,5	6,4	4,5	4,91	4,92	15,7	15,9	43,1	43,5	272	266
17T			5,9	5,7	63,7	62,6	27,8	29,5	8,5	7,9	5,02	5,05	15,9	15,8	44,4	44,6	286	280
18E	H	35	5,4	5,3	63,6	65,2	26,7	29,5	9,7	5,3	5,13	5,1	15,9	16,2	44,1	43,4	145	148
18T			5,6	5,5	64,1	62,7	26,5	29,7	9,4	7,6	5,13	5,15	16,2	16,5	44,7	45,3	159	155
19E	M	43	9,2	8,9	46,1	48,3	41,5	41,5	12,4	10,2	2,82	2,8	8,1	8,1	23,3	23,4	225	230
19T			9,5	9,4	44,5	44	43,2	44,1	12,3	11,9	2,81	2,79	8,5	8,3	22,9	23,4	238	235
20E	H	18	6,9	7	68	70,8	22,6	21,8	9,4	7,4	6,16	6,23	18,8	19	54,1	54,2	239	246
20T			7,3	7,2	68,2	67,6	22,8	25,6	9	6,8	6,2	6,21	19,3	19,6	54,8	55,3	251	257
21E	H	30	5	5	58,5	59,8	34,2	33,4	7,3	6,8	5,29	5,27	15,7	15,7	46,3	46,1	244	238
21T			5,1	5,1	56,2	58,5	34,1	33,3	9,7	8,2	5,25	5,2	15,5	15,3	46,2	46,5	235	240
22E	M	20	4,6	4,4	64,1	66	27,9	28,6	8	5,4	5,1	5,07	16,3	16,3	45,4	45,2	217	215
22T			4,9	4,6	62,8	62,2	29,4	32,7	7,8	5,1	5,22	5,28	16,7	16,8	46,3	46,1	225	224
23E	H	33	6,8	6,7	45,1	48,4	43,4	41,7	11,5	9,9	6,45	6,42	20,3	20,3	58,8	58,3	266	258
23T			7,1	7	45,4	48,1	43,7	44	10,9	7,9	6,52	6,55	20,9	21	59,7	59,9	274	265
24E	H	30	4,6	4,6	65,2	69,2	29,3	27,6	5,5	3,2	5,67	5,65	16,9	17	46,9	46,7	250	236
24T			5	4,8	63,2	64,5	29,3	30,9	7,5	4,6	5,71	5,7	17,4	17,6	47,8	48,3	220	223
25E	H	32	5,5	5,8	65,5	67,3	28,9	28,6	5,6	4,1	5,31	5,32	16,8	16,9	46,3	46,4	252	257
25T			5,7	5,6	64,6	66,8	27,3	28,4	8,1	4,8	5,37	5,32	17,1	17,1	47	47,2	268	259
26E	H	31	5,7	5,6	49,8	51,2	40,4	42,1	9,8	6,7	5,14	5,11	15,8	16	44	43,9	255	248

42E	H	41	7,3	7,1	60,6	64,4	29,6	27,7	9,8	7,9	5,38	5,41	16,8	16,9	47	47,4	231	226
42T			7,6	7,6	60,4	62,5	30,8	32,3	8,8	5,2	5,45	5,47	17,2	17	48,2	47,9	253	242
43E	H	33	5,5	5,7	52,6	55,1	36,8	36,7	10,6	8,2	5,37	5,33	16,6	16,7	46,2	45,9	258	257
43T			5,7	5,8	57,8	58,3	35,5	36,1	5,7	5,6	5,32	5,38	16,4	16,4	46	46,5	295	299
44E	H	29	8,1	8,1	74,1	75,2	18,6	19,8	7,3	5	4,73	4,68	14,5	14,7	42,1	41,8	315	310
44T			8,3	8	74,6	74,8	19,6	20,2	5,8	5	4,76	4,81	15,1	15,4	43,2	43,7	326	318
45E	H	24	5,9	6,1	65,5	68,5	27,4	25,5	7,1	6	5,45	5,43	16,7	16,8	47,1	47	214	220
45T			6,2	6,1	62,3	64,5	28,3	30,3	9,4	5,2	5,51	5,54	17,1	17,2	47,5	48	228	236
46E	H	27	7,9	7,8	59,5	61,7	31,1	32,9	9,4	5,4	5,62	5,65	15,6	15,7	45	45,5	275	267
46T			8,2	8,2	60,6	62,4	31,2	31,5	8,2	6,1	5,66	5,63	16,2	16,1	45,9	46,3	267	270
47E	H	22	4,3	4,1	55,6	54,2	38,8	39,7	5,6	6,1	5,75	5,78	17,9	18	49,9	50,6	166	170
47T			4,6	4,4	53,2	50,8	38,2	41,9	8,6	7,3	5,78	5,8	18,2	18,2	50,5	50,9	187	187
48E	H	46	6,1	6,2	53,5	57,2	40,8	38,9	5,7	3,9	5,24	5,24	16,8	16,9	47,8	47,6	193	187
48T			6,4	6,4	50,9	53	41,2	41,5	7,9	5,5	5,45	5,41	17,5	17,4	48,7	48,7	200	192
49E	H	25	5,4	5,4	62,5	64,8	31,5	29,9	6	5,3	4,82	4,78	15,9	15,9	43,6	43,4	282	275
49T			5,4	5,2	64,2	63,8	30,6	31,9	5,2	4,3	5,03	5,09	16,7	17	45	45,6	288	283
50E	H	31	5,1	5,1	49,3	51,6	42,1	42,7	8,6	5,7	4,41	4,38	11,6	11,9	38,4	38,7	160	167
50T			5,5	5,3	47,8	48,5	41,4	42,3	10,8	9,2	4,45	4,45	11,8	11,5	38,5	38,1	172	178
51E	H	33	9,4	9,5	74,8	77,3	18,1	18,4	7,1	4,3	5,22	5,18	15,9	15,9	47,3	47	253	246
51T			9,6	9,5	75,4	76,1	17,7	16,9	6,9	7	5,34	5,25	16,6	16,5	48,4	48,7	275	265
52E	H	29	7,9	7,8	61,1	62,5	32,4	32,9	6,5	4,6	5,12	5,09	15,4	15,5	45,1	44,4	210	212
52T			8	7,9	61,5	60,8	31,5	33,1	7	6,1	5,25	5,28	15,6	15,9	45,7	45,7	211	200
53E	H	26	7,2	7,2	70,9	72,5	22,6	22	6,5	5,5	5,64	5,64	16,6	16,8	48,3	47,8	176	170
53T			7,6	7,3	69,7	71,3	24,4	25,3	5,9	3,4	5,74	5,79	17,3	17,3	48,9	49,2	186	175
54E	H	44	6,8	7	56,2	57,9	35,5	37,9	8,3	4,2	6,02	6,06	17,5	17,8	48,9	49,1	209	218
54T			7,1	6,8	55,3	58,1	36,3	36	8,4	5,9	6,14	6,12	17,9	18,2	49,4	50	216	222
55E	H	24	4,8	4,8	48,2	48,5	41,3	44	10,5	7,5	5,42	5,4	16,3	16,5	45,8	45,3	172	174
55T			4,9	4,8	50,7	51,2	39,6	40,1	9,7	8,7	5,59	5,55	16,7	16,7	46,5	47	197	184
56E	H	19	6	6,1	63,3	61,8	32,2	34,2	4,5	4	5,86	5,83	18	18,2	52,7	51,7	163	158
56T			6,2	6,1	66,7	65,5	29,5	31,3	3,8	3,2	6,03	6,06	18,6	18,5	53,4	53,7	153	150
57E	H	22	6,3	6	62,8	65,1	26,5	25,8	10,7	9,1	5,51	5,49	16,1	16,1	46,9	46,5	247	256

57T	6,4	6,4	63,3	64,2	26	28,1	10,7	7,7	5,65	5,7	16,8	16,5	48,2	47,3	263	267
58E	H	25	6,4	6,4	61	34,6	35,2	4,4	3,8	5,77	5,8	17,3	48,4	48,9	195	202
58T	H	23	6,6	6,7	62,4	65,1	31,7	4,8	3,2	5,85	5,78	17,8	49,1	49,4	215	204
59E	H	23	7,6	7,8	45,2	48,7	41,2	13,6	9,6	4,85	4,83	15,1	42	41,8	239	236
59T	H	35	8,1	8,1	45,2	47,3	41,5	13,3	10,8	4,9	4,92	15,5	42,6	42,8	221	230
60E	H	35	6,6	6,3	48,3	50,8	41,1	8,9	8,1	5,72	5,75	17,4	48,4	48,9	320	316
60T	H	40	6,7	6,6	47,8	50,4	42,2	10	8,1	5,84	5,9	17,9	49,3	49,9	329	335
61E	H	40	4,8	4,7	55,9	56,1	34,6	36,6	7,3	5,51	5,54	17,1	48	48,5	224	229
61T	H	38	5	5,2	58,5	60,2	33,5	34,3	8	5,62	5,64	17,6	48,9	48,7	242	240
62E	M	27	5,4	5,4	61,9	63,4	25	26	10,6	5,11	5,09	15,2	43,5	43,1	191	196
62T	M	27	5,7	5,2	61,9	60,8	25,5	26,4	12,8	5,25	5,31	15,6	44,4	44,5	208	205
63E	H	38	4,1	4	53,8	53,8	39,9	41,1	5,1	6,04	6,01	17,5	49,6	49,3	198	195
63T	H	38	4,3	4,2	55	55,6	39	38,5	5,9	6,15	6,15	18,1	51,1	52	195	200
64E	H	30	6,2	6,2	54,8	58,5	38,1	37,3	4,2	5	5,02	15,1	44,4	44,8	242	231
64T	H	30	6	5,9	62,4	63,7	35	34,6	2,6	5,08	5,1	15,3	45,2	45,7	266	254
65E	M	26	5,4	5,4	62,2	62,4	27,2	30,9	6,7	4,92	4,88	15,1	43,5	43	161	167
65T	M	26	5,4	5,4	63,5	65,3	26,7	25,9	8,8	5,05	5,01	15,6	44,2	44	190	182
66E	H	35	4,6	4,4	66,8	69,5	24,8	25,2	5,3	5,89	5,85	17,2	50,3	49,7	149	145
66T	H	35	4,9	4,8	68,3	66,5	23,9	26,6	6,9	5,94	5,98	17,5	51,2	51,5	162	164
67E	H	32	5,7	5,6	52,4	56,1	39	38,1	5,8	5,57	5,54	17	47,7	47,2	248	242
67T	H	32	6,1	5,7	55,1	55,7	39	40,1	4,2	5,65	5,69	17,4	49	48,7	261	266
68E	H	41	7,3	7,2	71,8	74,3	23,2	22	3,7	5,04	5,05	15,9	46,7	46,7	157	157
68T	H	41	7,6	7,4	72,6	74,1	22,6	22,4	3,5	5,07	5	16,2	47,2	47	167	165
69E	H	22	6,4	6,4	50,7	52,5	39,7	41,1	6,4	6,44	6,4	20	55,9	55,2	145	147
69T	H	22	6,7	6,6	53,1	54,6	36,7	37,8	7,6	6,53	6,5	19,9	56,1	56,3	174	158
70E	M	27	6	5,9	56,2	59,4	35,4	34,6	6	5	4,97	15,5	45,9	45	236	233
70T	M	27	6,3	5,5	58,6	60,3	34,8	34,5	5,2	4,97	4,92	15,5	45,7	45,4	236	222
71E	H	42	4,5	4,7	34	35,2	59,7	61,3	3,5	5,8	5,82	16,9	49,6	49,9	210	201
71T	H	42	4,5	4,4	42,1	42,7	56,4	56,2	1,1	5,86	5,9	17,2	50,4	50,8	216	216
72E	H	39	11,4	11,3	59,4	57,6	31,8	34,2	8,8	5,67	5,66	17,4	49,2	49	261	265

72T	11,7	11,5	59,6	61	30,6	32,1	9,8	6,9	5,75	5,79	17,8	17,8	50,3	50,5	274	287
73E	4,6	4,5	61,7	61,8	29,5	30,8	8,8	7,4	6,23	6,26	18,5	18,5	53,3	53,7	216	209
73T	4,9	5	64,9	65,2	27,1	26,8	8	8	6,29	6,24	19	18,9	54,1	53,8	217	226
74E	7,2	7	72,9	74,2	22,2	22,5	4,9	3,3	5,93	5,88	18,4	18,3	52	51,4	283	274
74T	7,4	7,4	68,7	69,4	22,8	23,2	8,5	7,4	6,07	6,1	18,6	18,5	52,7	53	287	276
75E	6,4	6,5	51,5	55,6	34,4	35,9	8,8	8,5	5,52	5,48	16,8	16,9	47,5	47,2	234	229
75T	6,5	6,4	55,2	57,9	34,2	33	10,6	9,1	5,63	5,65	17,1	17	48,4	48,9	228	234
76E	5,8	5,8	51,5	55,9	37,7	36,8	10,8	7,3	5,14	5,12	15,9	15,9	45,5	45,1	228	226
76T	5,7	5,5	59,3	62,4	34,8	32,4	5,9	5,2	5,14	5,1	15,8	16,1	45,8	45,2	231	223
77E	5,4	5,2	56,6	58,4	35,5	37,5	7,9	4,1	5,24	5,25	16,7	16,8	45,8	46	267	271
77T	5,6	5,3	54,7	52,8	38	41,3	7,3	5,9	5,21	5,29	16,5	16,7	45,2	45,8	268	269
78E	6,6	6,3	67,6	69,4	25,1	26,2	7,3	4,4	5,97	5,94	18,6	18,7	51,7	51,4	246	239
78T	6,9	6,5	70,2	72,2	24,9	24,1	4,9	3,7	6,12	6,15	19,2	19,4	53	53,5	244	242
79E	7,3	7,3	64,1	65,9	28	27,4	7,9	6,7	5,31	5,28	16,7	16,8	47,7	47,5	300	291
79T	7,5	7,3	69,1	68,5	26,3	27,1	4,6	4,4	5,48	5,42	17	17,3	48,4	48,3	312	307
80E	4,8	4,5	39,8	38,9	43,1	45,8	17,1	15,3	5,28	5,27	16,9	16,9	47,8	47,3	164	176
80T	4,9	4,8	42,1	43	41,9	42,8	16	14,2	5,35	5,4	16,6	16,5	47,9	48,4	199	193
81E	6,3	6,5	56,9	58,9	37,3	36	5,8	5,1	5,43	5,41	16,5	16,6	47,3	47,3	252	255
81T	6,6	6,4	59,6	64,1	32,8	28,8	7,6	7,1	5,46	5,36	16,9	17	48	47,5	268	261
82E	7,8	7,7	70	73,6	22,1	22,4	7,9	4	5,5	5,47	16,3	16,5	45,8	45,2	252	245
82T	7,9	7,8	72,9	73,2	21,3	22,3	5,8	4,5	5,64	5,64	16,8	17,1	46,7	47,1	237	243
83E	4,7	4,8	52,7	55,1	37,4	38,6	9,9	6,3	5,43	5,4	16,4	16,4	46,4	45,9	144	149
83T	5	4,7	50,9	53,5	41,4	41	7,7	5,5	5,35	5,32	15,9	15,9	45,9	45,6	174	166
84E	5	5,1	47,5	49,3	43,2	43,5	9,3	7,2	5,82	5,79	18,8	18,8	52,4	52	228	223
84T	5,4	5,4	47,5	48,2	41,8	42,9	10,7	8,9	5,9	5,93	19,1	18,9	52,8	52,8	240	243
85E	5,6	5,5	45	48,4	45	43,8	9	7,8	4,83	4,87	15,3	15,4	44,1	44,7	176	170
85T	5,6	5,7	47,3	49,5	45	43,8	7,7	6,7	4,92	4,95	15,4	15,7	45	45,7	182	170
86E	9,1	9,1	59,2	62,7	32,5	32,7	8,3	4,6	5,07	5,03	15,4	15,4	42,4	42,3	405	402
86T	9,4	9,2	61,6	63,1	31,2	31,5	7,2	5,4	5,1	5,02	15,6	15,4	42,9	43,4	406	411
87E	4,8	4,6	35,8	35,7	46,2	47,9	18	16,4	4,91	4,96	15,4	15,6	45,5	46,4	192	199

ANEXO N°8
TABLAS DE REGISTROS

MATRIZ DE DATOS - D						
MUESTRAS EXTRAIDAS CON CITRATO DE SODIO Y TRIFOSFATO PENTASODICO						
N°	Sx	Ed	FIBRINOGENO (mg/dl)	TIEMPO DE PROTROMBINA		TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ACTIVADA (seg)
				Segundos	Porcentaje	
1C						
1T						
2C						
2T						
3C						
3T						
.						
.						
.						
.						
100C						
100T						

N°: Número de muestra ; Sx: Sexo ; Ed: Edad ; C: Muestra extraída con Citrato de Sodio; T: Muestra extraída con Trifosfato Pentasódico

ANEXO N°9

MATRIZ DE DATOS “D”

MUESTRAS EXTRAIDAS CON CITRATO DE SODIO Y TRIFOSFATO PENTASODICO						
PRUEBAS DE HEMOSTASIA						
N°	S	E	FIBRINOGENO (mg/dL)	TIEMPO PROTROMBINA		TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ACTIVADA (seg)
				Segundos	Porcentaje	
1C			180	14,1	84	35
1T	H	42	180	13,2	87	65
2C			370	13,8	87	34
2T	H	25	300	12,3	97	49
3C			430	15	76	43
3T	M	39	430	15,1	68	76
4C			300	12,7	97	32
4T	H	20	370	12	100	50
5C			300	14	85	37
5T	H	36	300	13,1	89	74
6C			300	14,2	83	35
6T	H	23	300	13,6	82	64
7C			500	13	95	31
7T	M	33	500	12,4	95	52
8C			370	12,5	100	33
8T	H	29	370	12	100	49
9C			300	14	85	32
9T	H	34	300	12,6	93	50
10C			370	13,9	87	35
10T	M	24	370	13,8	80	63
11C			370	18,1	50	39
11T	M	38	370	16,4	53	65
12C			300	14	85	33
12T	H	25	300	13,2	87	49
13C			240	12,6	98	31
13T	M	30	300	12	100	45
14C			300	14,8	77	36
14T	H	41	300	14	78	59

36T					240	12,2	97	71
37C	H	25			180	14,5	80	34
37T					180	12,4	95	53
38C	M	29			500	13,7	88	32
38T					500	12,5	94	61
39C	H	31			240	14	85	34
39T					180	14,1	77	76
40C	H	33			500	15	76	37
40T					500	14,2	76	65
41C	M	24			240	13	95	35
41T					240	12,3	96	68
42C	H	29			240	12,7	97	32
42T					240	12,1	98	53
43C	H	22			300	12,9	95	34
43T					240	12	100	44
44C	M	40			300	13,3	92	35
44T					300	12,4	95	50
45C	H	34			300	13,5	90	34
45T					300	12,8	91	58
46C	M	35			240	13,4	91	33
46T					300	12,4	95	58
47C	M	38			240	13,9	87	36
47T					240	14,2	76	69
48C	H	34			300	14	85	41
48T					370	12,5	94	75
49C	H	43			240	14,6	79	43
49T					300	13,1	88	73
50C	H	23			180	12,6	98	34
50T					180	12,8	91	61
51C	H	20			370	13	95	32
51T					370	13,2	87	52
52C	M	46			300	18,4	48	36
52T					240	17	49	50
53C	H	23			240	13,8	87	33
53T					240	12,9	90	55
54C	H	27			240	12,5	100	32
54T					240	12	100	51
55C	M	38			300	14,1	84	34
55T					240	13	89	60
56C	H	30			300	12,9	95	35
56T					300	13,8	80	69
57C	H	48			370	19,5	43	49
57T					300	17,8	45	90

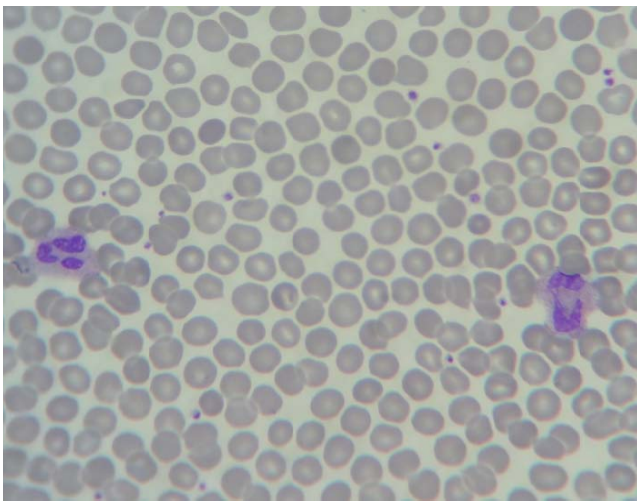
79T				370	14	78	66
80C	H	36		240	13,2	93	35
80T				180	12,4	95	55
81C	H	24		240	12,7	97	31
81T				240	12	100	50
82C	M	31		300	13,6	89	39
82T				300	12,8	91	61
83C	M	26		240	14,4	81	40
83T				240	12,8	91	69
84C	H	40		240	14	85	31
84T				300	12	100	49
85C	H	22		240	12,5	100	33
85T				240	12	100	50
86C	M	30		430	13,5	90	31
86T				430	12,1	98	48
87C	H	44		370	13,9	87	39
87T				370	13	89	75
88C	H	46		240	15	76	44
88T				240	13,6	82	54
89C	M	36		560	13,9	87	35
89T				560	13,2	87	68
90C	H	45		240	21,6	38	39
90T				300	18,9	41	68
91C	H	29		300	13,5	90	38
91T				370	12,6	93	49
92C	M	38		300	15	76	40
92T				240	14	78	77
93C	H	32		240	13,8	87	37
93T				240	13	89	54
94C	H	23		370	12,7	97	33
94T				300	12	100	49
95C	H	23		180	12,5	100	31
95T				180	12	100	50
96C	H	43		300	23,4	35	47
96T				370	20,8	36	85
97C	H	20		240	12,5	100	37
97T				240	12	100	54
98C	H	49		500	14	85	37
98T				500	14	78	61
99C	M	25		300	13,2	93	32
99T				300	12,1	98	48
100C	H	34		370	13,5	90	34
100T				370	12,4	95	51

ANEXO N°10

**COMPARACION DEL GRADO DE CONSERVACION EN LA MORFOLOGIA
CELULAR GENERAL DE UNA MUESTRA OBTENIDA DEL PACIENTE "X" CON
EDTA DIPOTASICO (EDTA·K2) Y CON TRIFOSFATO PENTASODICO (TFPS)**

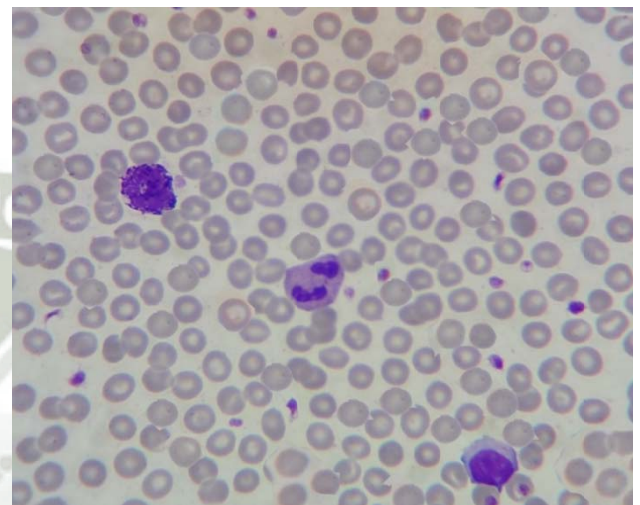
MUESTRA CON EDTA·K2

(A LA HORA CERO)



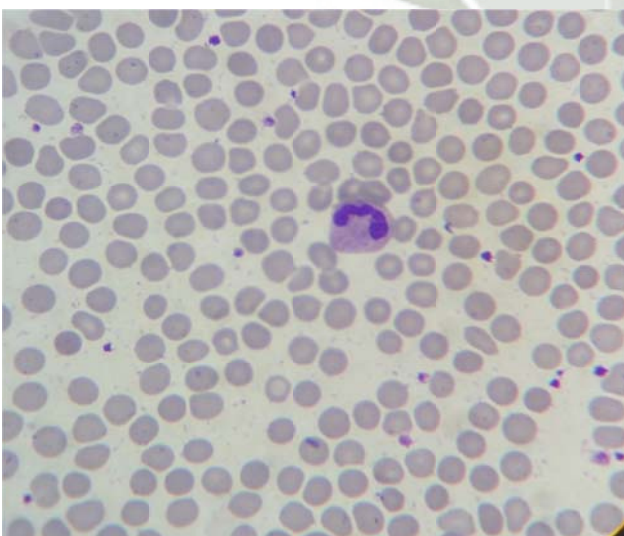
MUESTRA CON TFPS

(A LA HORA CERO)



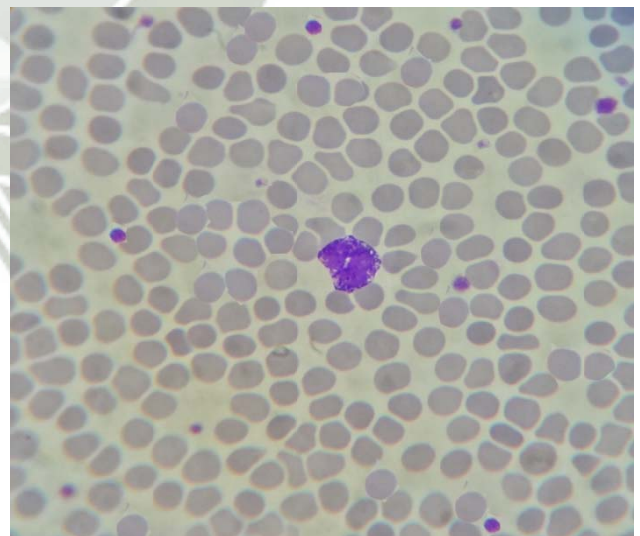
MUESTRA CON EDTA·K2

(A LAS 6 HORAS)



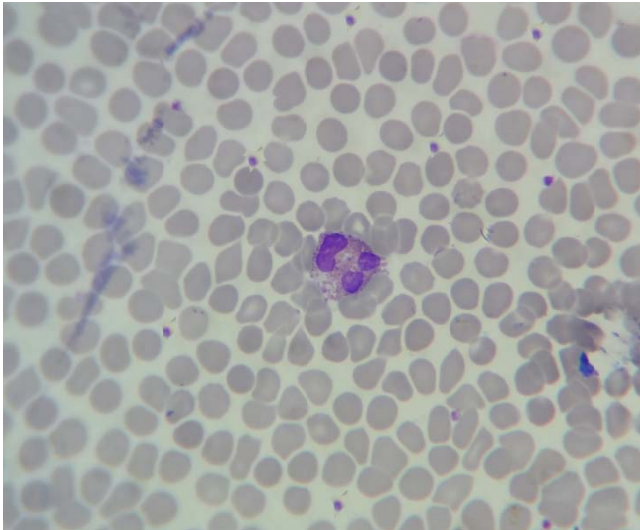
MUESTRA CON TFPS

(A LAS 6 HORAS)



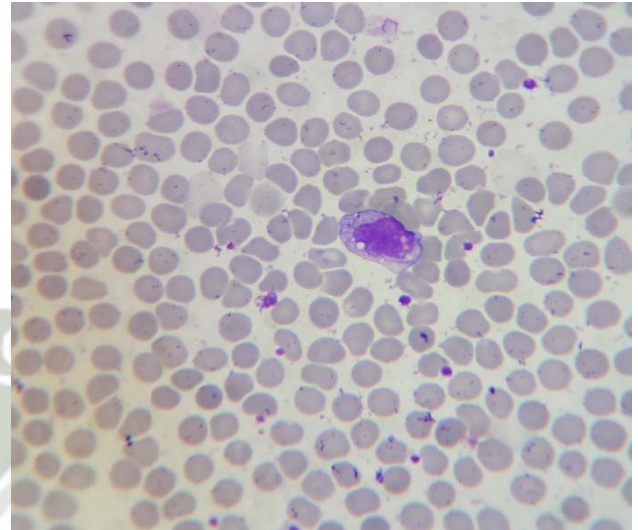
MUESTRA CON EDTA·K2

(A LAS 12 HORAS)



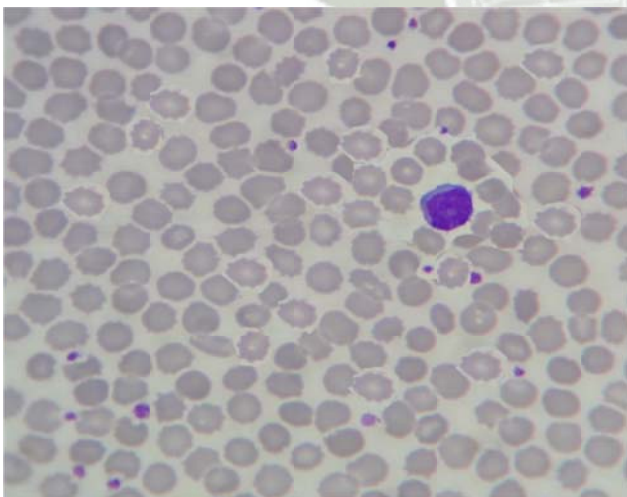
MUESTRA CON TFPS

(A LAS 12 HORAS)



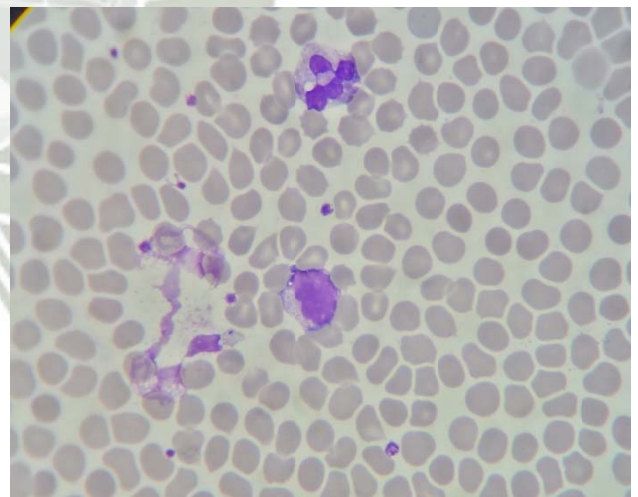
MUESTRA CON EDTA·K2

(A LAS 24 HORAS)



MUESTRA CON TFPS

(A LAS 24 HORAS)

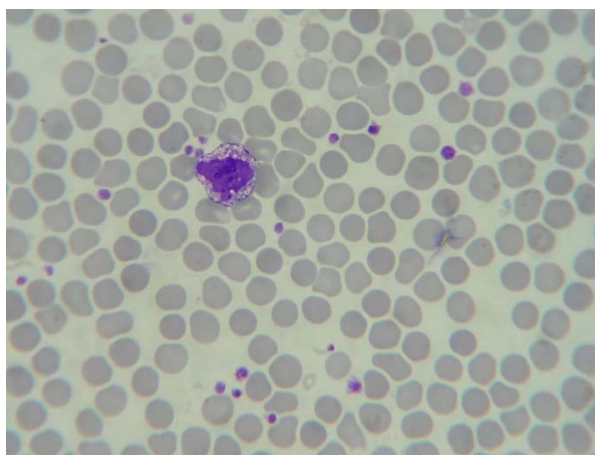


ANEXO N°11

**COMPARACION DEL GRADO DE CONSERVACION EN LA MORFOLOGIA
CELULAR GENERAL DE UNA MUESTRA OBTENIDA DEL PACIENTE “Y” CON
EDTA DIPOTASICO (EDTA·K2) Y CON TRIFOSFATO PENTASODICO (TFPS)**

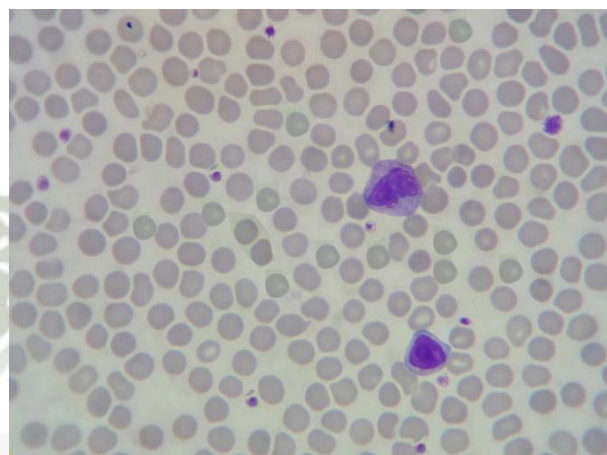
MUESTRA CON EDTA·K2

(A LAS 0 HORAS)



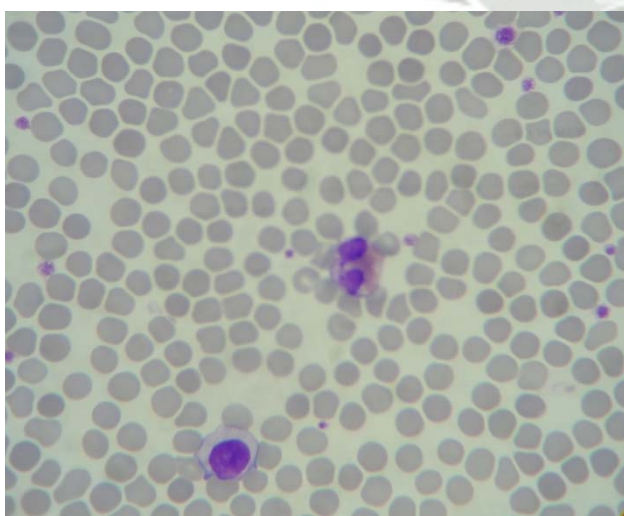
MUESTRA CON TFPS

(A LAS 0 HORAS)



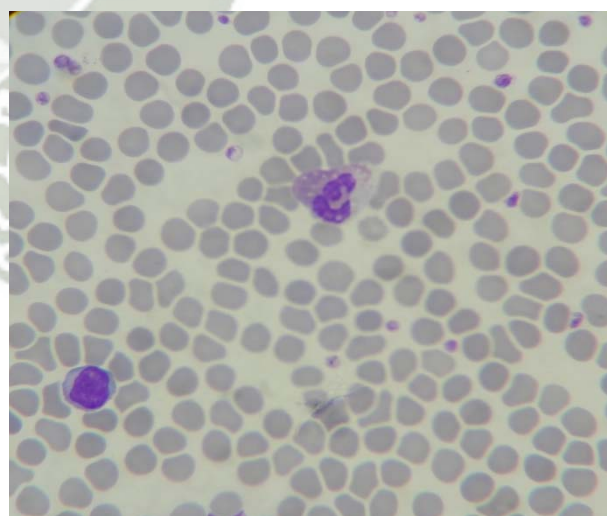
MUESTRA CON EDTA·K2

(A LAS 6 HORAS)



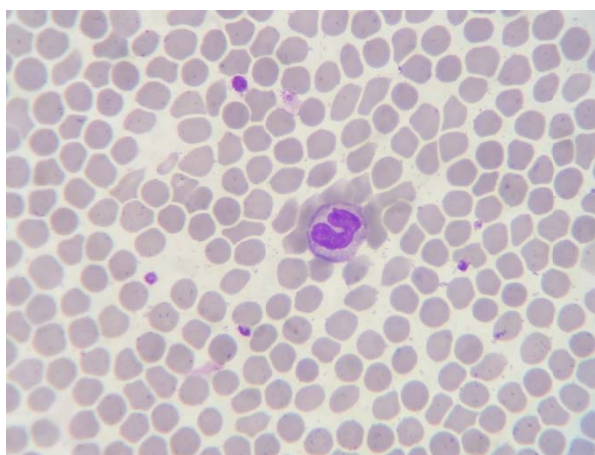
MUESTRA CON TFPS

(A LAS 6 HORAS)



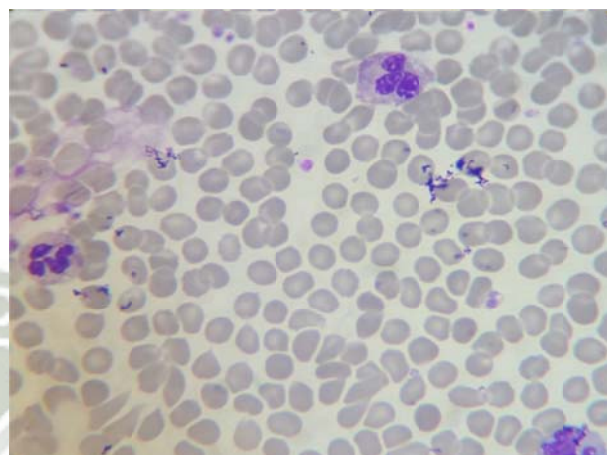
MUESTRA CON EDTA · K2

(A LAS 12 HORAS)



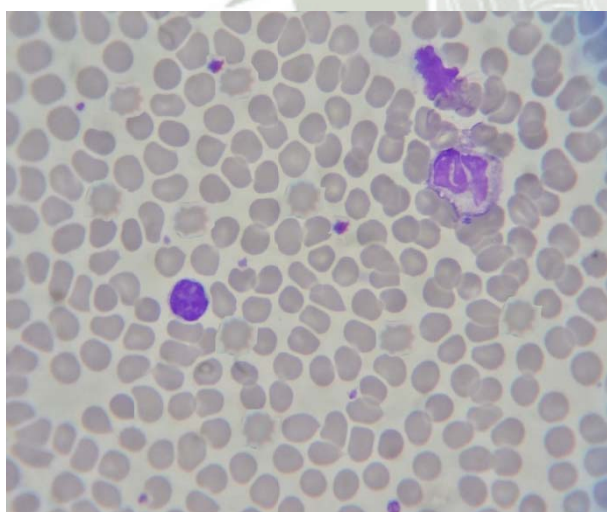
MUESTRA CON TFPS

(A LAS 12 HORAS)



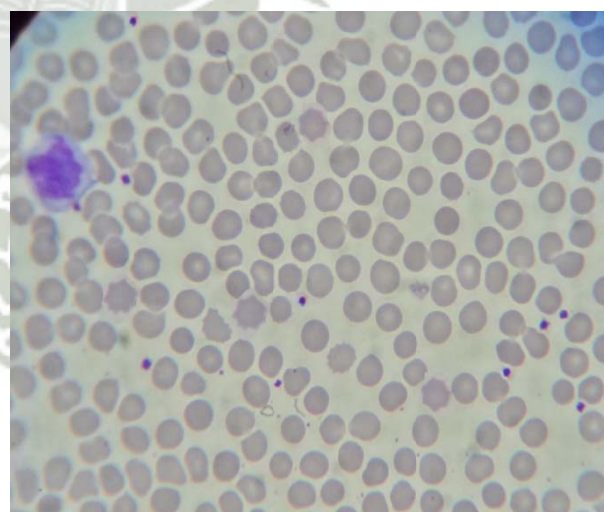
MUESTRA CON EDTA · K2

(A LAS 24 HORAS)



MUESTRA CON TFPS

(A LAS 24 HORAS)

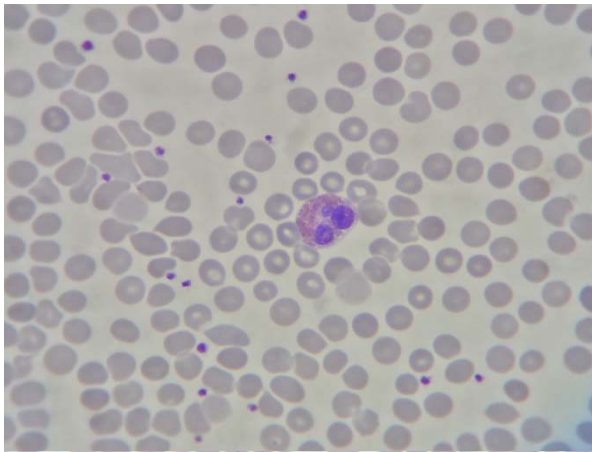


ANEXO N°12

**COMPARACION DEL GRADO DE CONSERVACION EN LA MORFOLOGIA
CELULAR GENERAL DE UNA MUESTRA OBTENIDA DEL PACIENTE "Z" CON
EDTA DIPOTASICO (EDTA·K₂) Y CON TRIFOSFATO PENTASODICO (TFPS)**

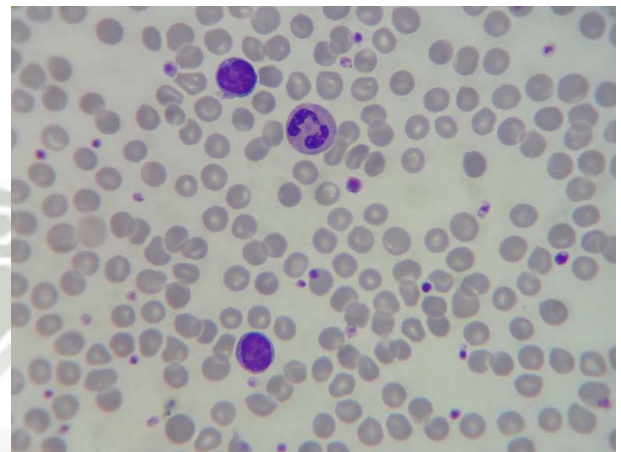
MUESTRA CON EDTA·K₂

(A LAS 0 HORAS)



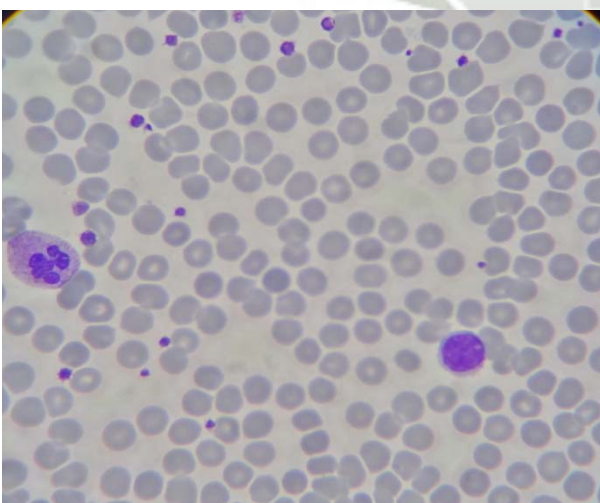
MUESTRA CON TFPS

(A LAS 0 HORAS)



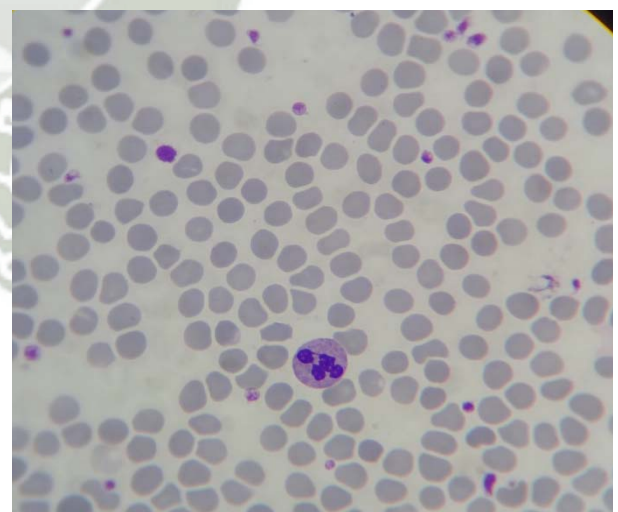
MUESTRA CON EDTA·K₂

(A LAS 6 HORAS)



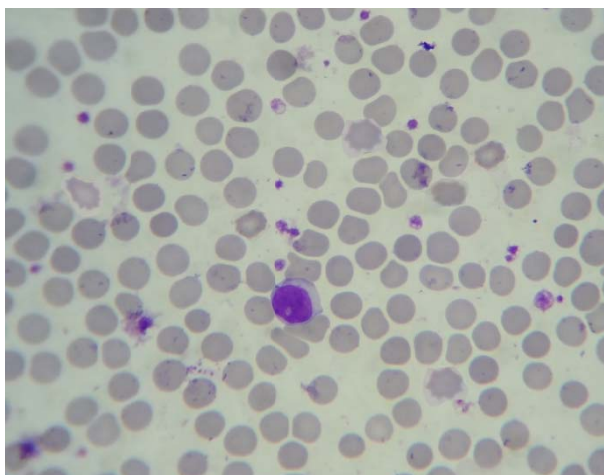
MUESTRA CON TFPS

(A LAS 6 HORAS)



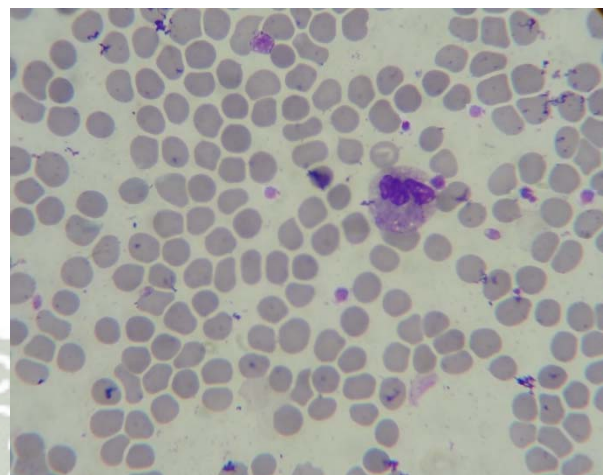
MUESTRA CON EDTA·K2

(A LAS 12 HORAS)



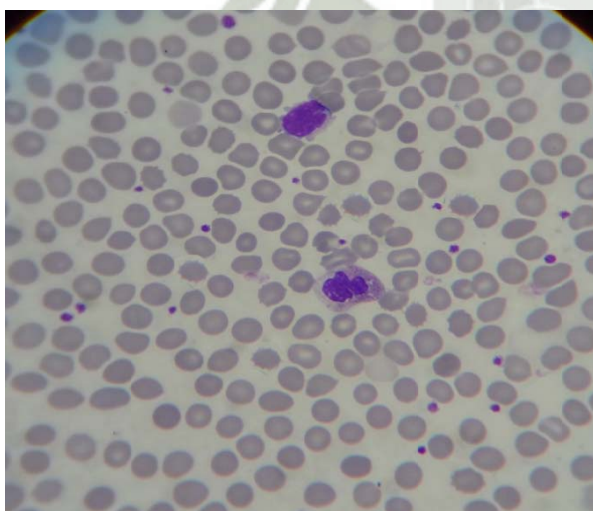
MUESTRA CON TFPS

(A LAS 12 HORAS)



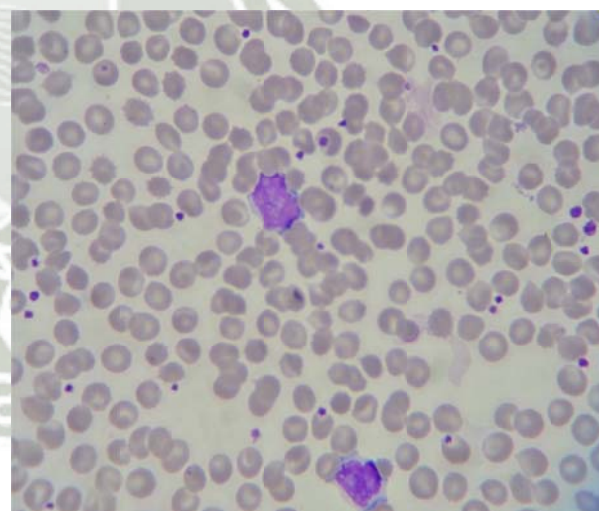
MUESTRA CON EDTA·K2

(A LAS 24 HORAS)



MUESTRA CON TFPS

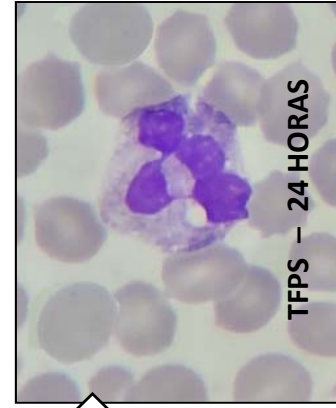
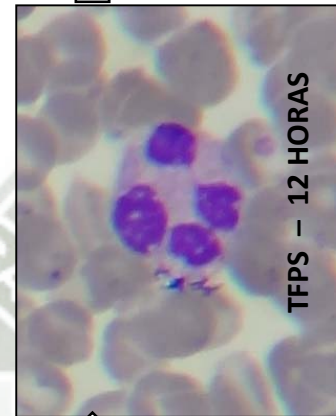
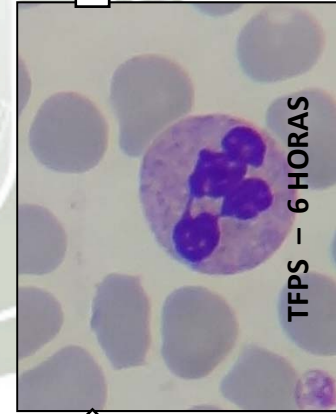
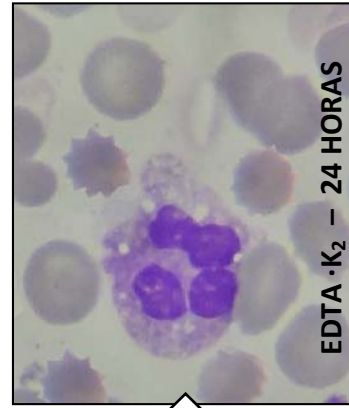
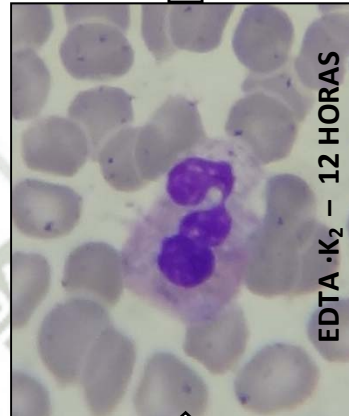
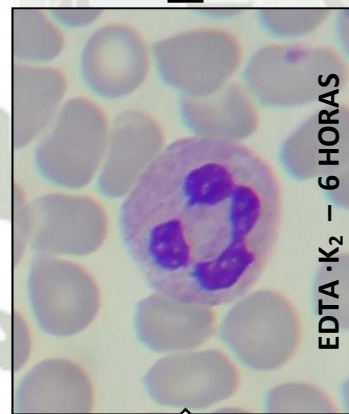
(A LAS 24 HORAS)



ANEXO N°13

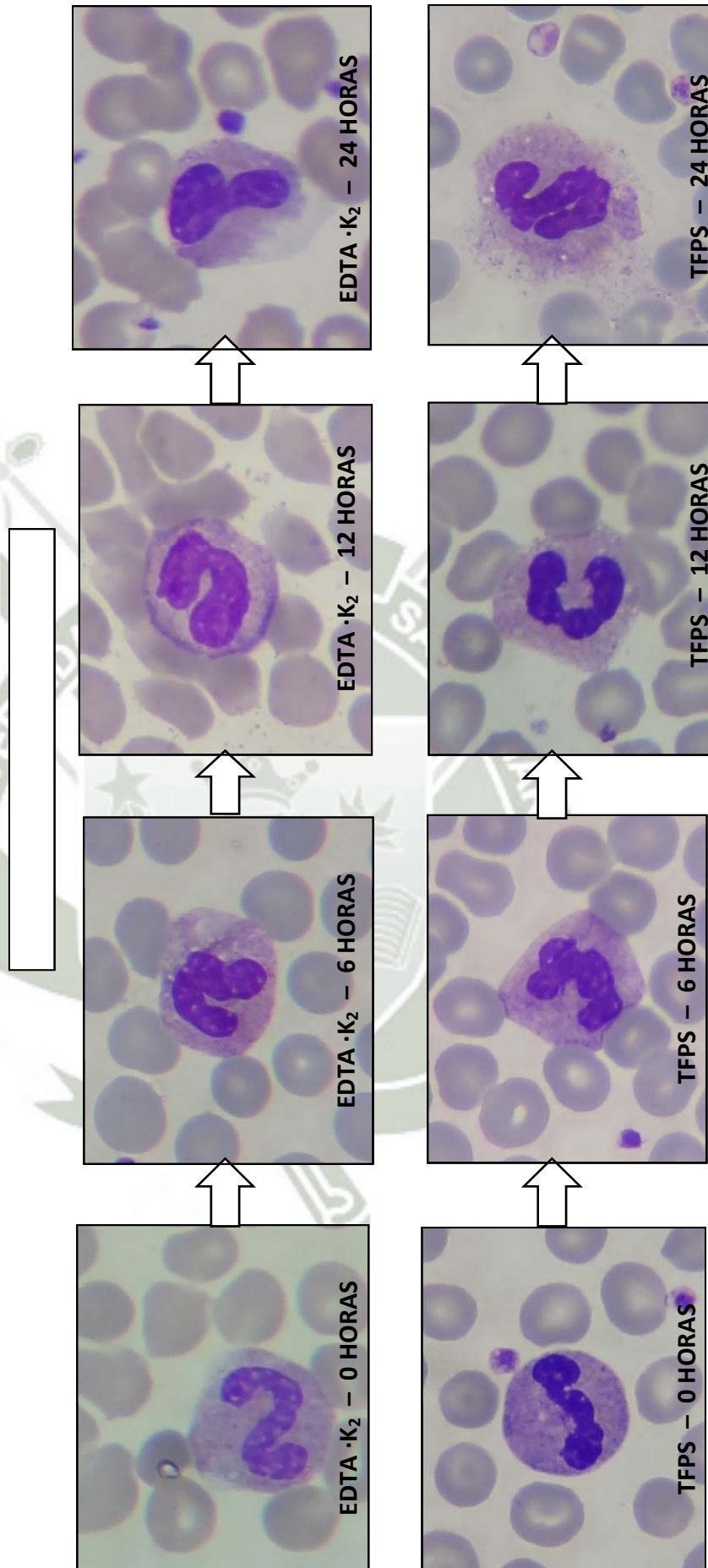
COMPARACION EN LA CONSERVACION DE LA MORFOLOGIA CELULAR DE SANGRE PERIFERICA TRATADA CON
EDTA DIPOTASICO (EDTA · K₂) Y TRIFOSFATO PENTASODICO (TFPS) DE LAS FORMAS LEUCOCITARIAS MÁS COMUNES
(AMPLIACION MICROSCOPICA 100x – TECNICA DE COLORACION WRIGHT)

NEUTROFILOS SEGMENTADOS



ANEXO N° 14

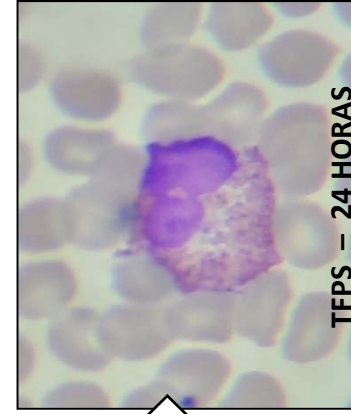
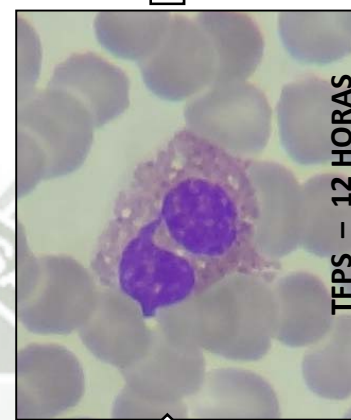
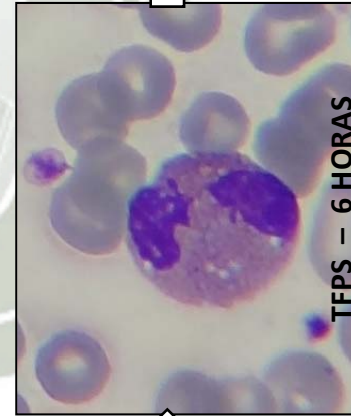
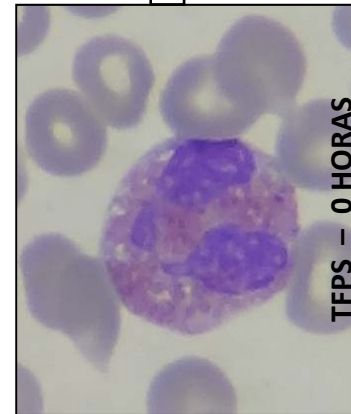
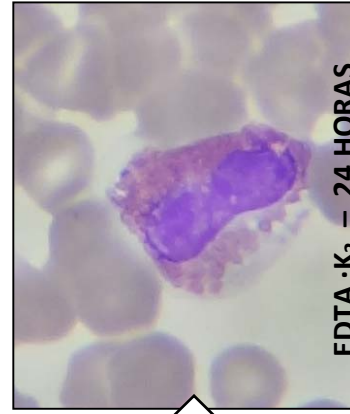
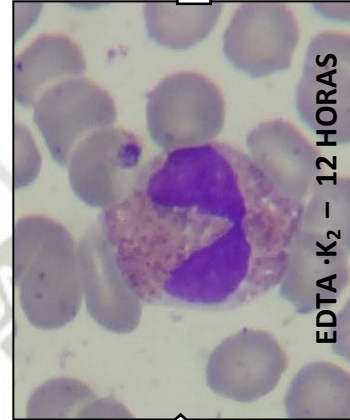
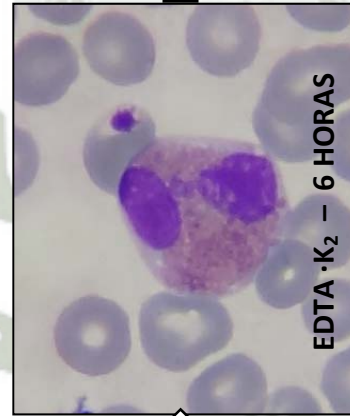
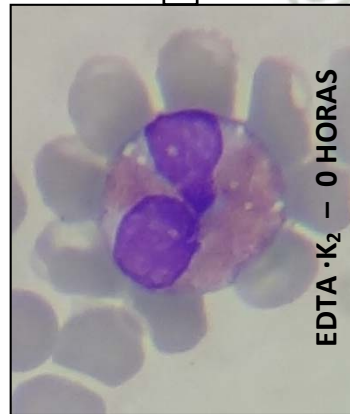
COMPARACION EN LA CONSERVACION DE LA MORFOLOGIA CELULAR DE SANGRE PERIFERICA TRATADA CON EDTA DIPOTASICO (EDTA · K₂) Y TRIFOSFATO PENTASODICO (TFPS) DE LAS FORMAS LEUCOCITARIAS MÁS COMUNES (AMPLIACION MICROSCOPICA 100x – TECNICA DE COLORACION WRIGHT)



ANEXO N°15

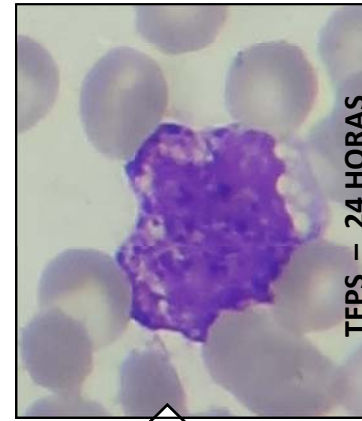
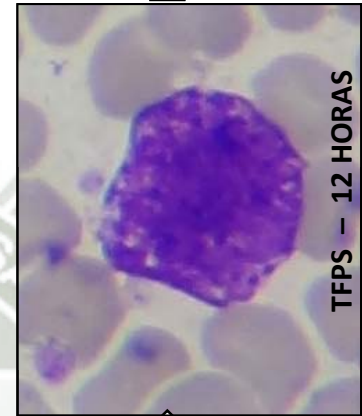
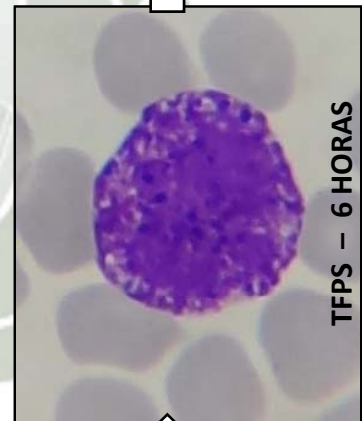
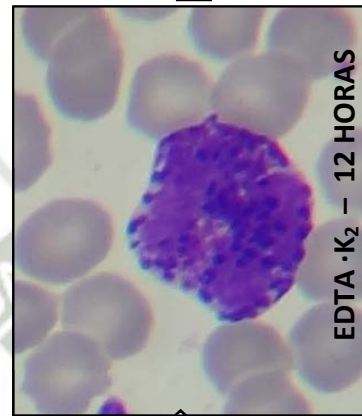
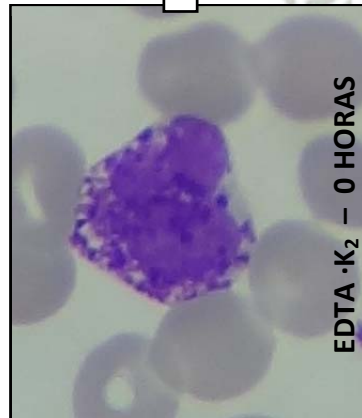
COMPARACION EN LA CONSERVACION DE LA MORFOLOGIA CELULAR DE SANGRE PERIFERICA TRATADA CON EDTA DIPOTASICO (EDTA · K₂) Y TRIFOSFATO PENTASODICO (TFPS) DE LAS FORMAS LEUCOCITARIAS MÁS COMUNES (AMPLIACION MICROSCOPICA 100x – TECNICA DE COLORACION WRIGHT)

EOSINOFILOS



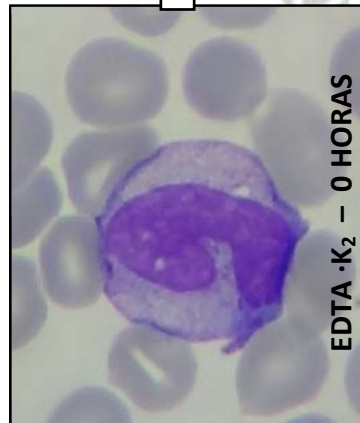
ANEXO N°16

COMPARACION EN LA CONSERVACION DE LA MORFOLOGIA CELULAR DE SANGRE PERIFERICA TRATADA CON
EDTA DIPOTASICO (EDTA ·K₂) Y TRIFOSFATO PENTASODICO (TFPS) DE LAS FORMAS LEUCOCITARIAS MÁS COMUNES
(AMPLIACION MICROSCOPICA 100x – TECNICA DE COLORACION WRIGHT)

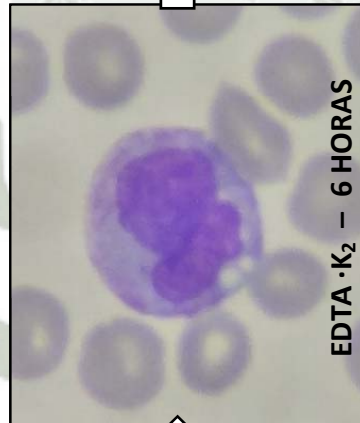


ANEXO N°17

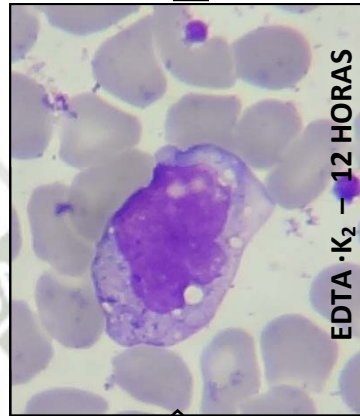
COMPARACION EN LA CONSERVACION DE LA MORFOLOGIA CELULAR DE SANGRE PERIFERICA TRATADA CON
EDTA DIPOTASICO (EDTA ·K₂) Y TRIFOSFATO PENTASODICO (TFPS) DE LAS FORMAS LEUCOCITARIAS MÁS COMUNES
(AMPLIACION MICROSCOPICA 100x – TECNICA DE COLORACION WRIGHT)



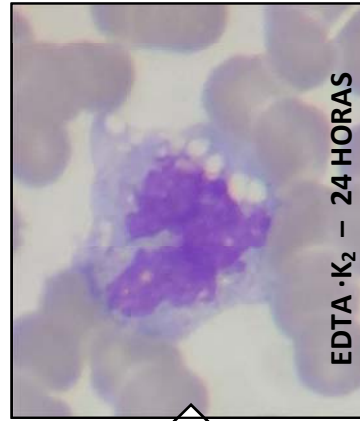
EDTA ·K₂ – 0 HORAS



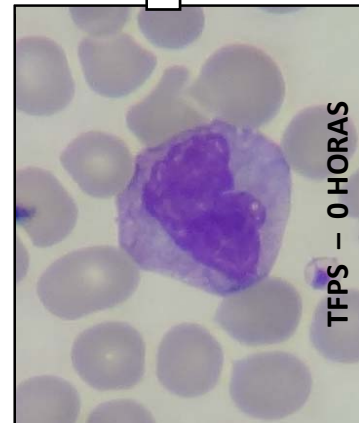
EDTA ·K₂ – 6 HORAS



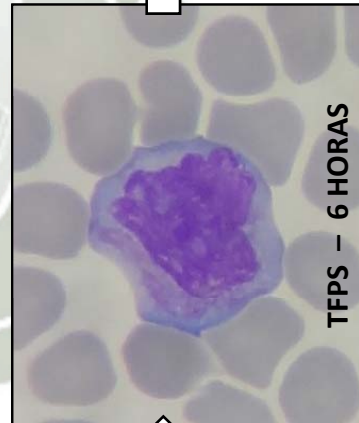
EDTA ·K₂ – 12 HORAS



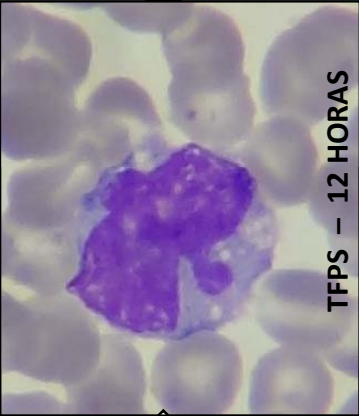
EDTA ·K₂ – 24 HORAS



TFPS – 0 HORAS



TFPS – 6 HORAS



TFPS – 12 HORAS

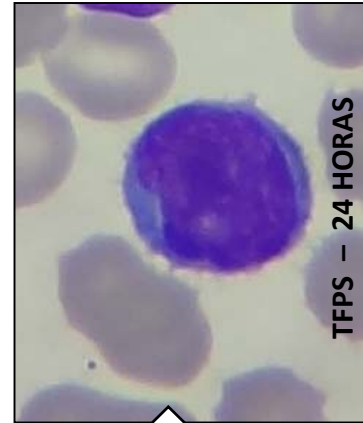
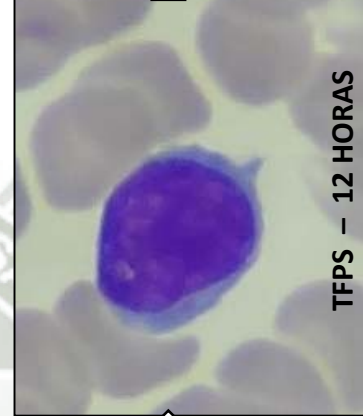
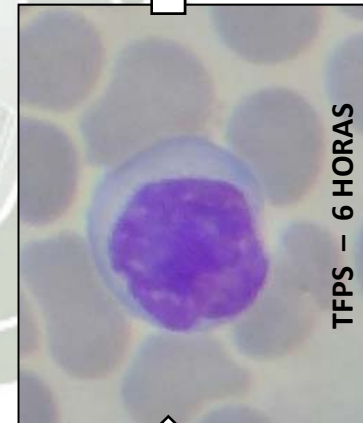
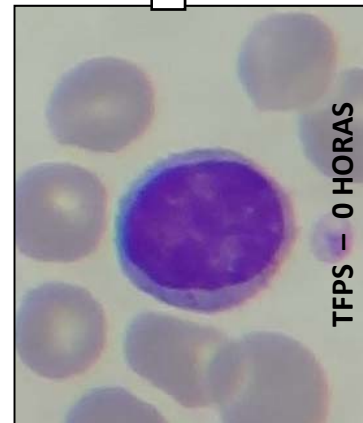
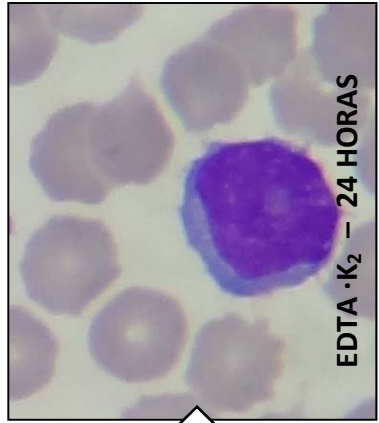
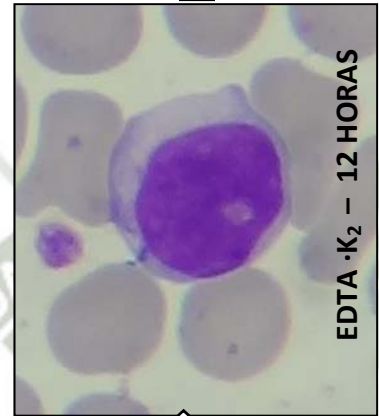
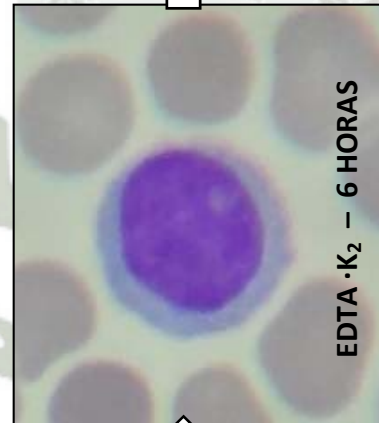
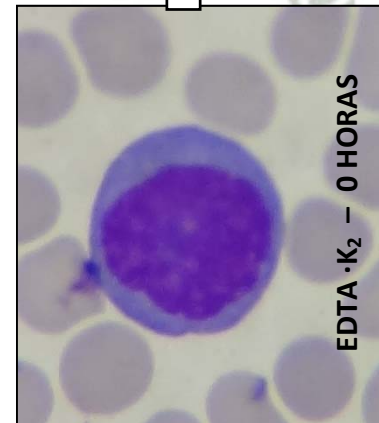


TFPS – 24 HORAS

ANEXO N°18

COMPARACION EN LA CONSERVACION DE LA MORFOLOGIA CELULAR DE SANGRE PERIFERICA TRATADA CON
EDTA DIPOTASICO (EDTA ·K₂) Y TRIFOSFATO PENTASODICO (TFPS) DE LAS FORMAS LEUCOCITARIAS MÁS COMUNES
(AMPLIACION MICROSCOPICA 100x – TECNICA DE COLORACION WRIGHT)

LINFOCITOS



ANEXO N° 19

REACTIVOS UTILIZADOS

TRIFOSFATO PENTASODICO GRADO TECNICO

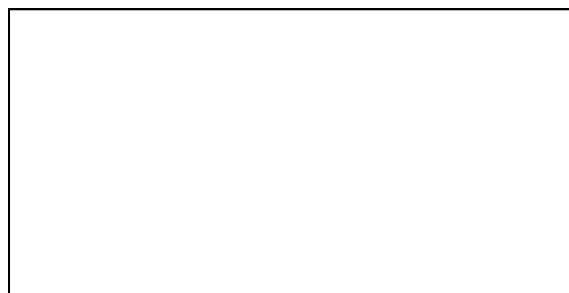


REACTIVO DE WRIGHT – DIAGTEST® (Tinción de Wright)

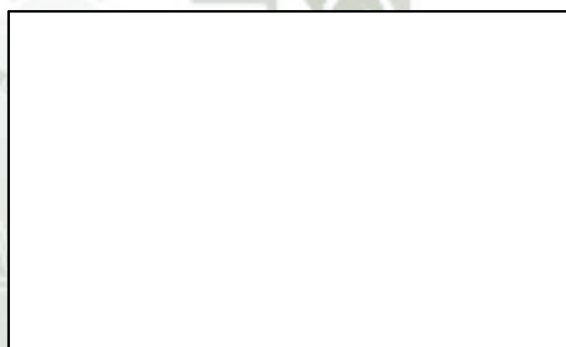


5g
50ml

SOLUCION DE TURCK – BIOLABTEST® (Recuento total de leucocitos)



REACTIVO DE DRABKIN – BIOLABTEST® (Dosificación de Hemoglobina)



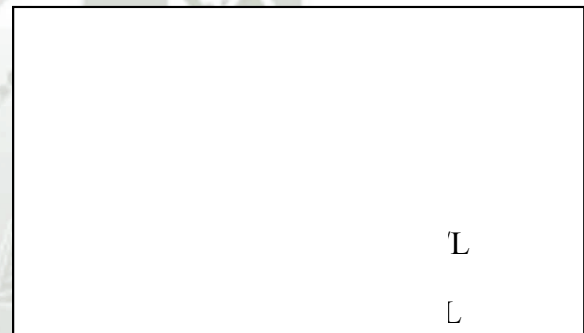
REACTIVO OXALATO DE AMONIO – BIOLABTEST® (Recuento directo de plaquetas)



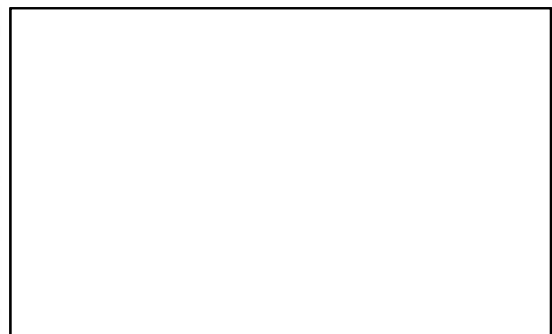
REACTIVO STROMATOLYSER–ROCHE (Citometría hemática automatizada)



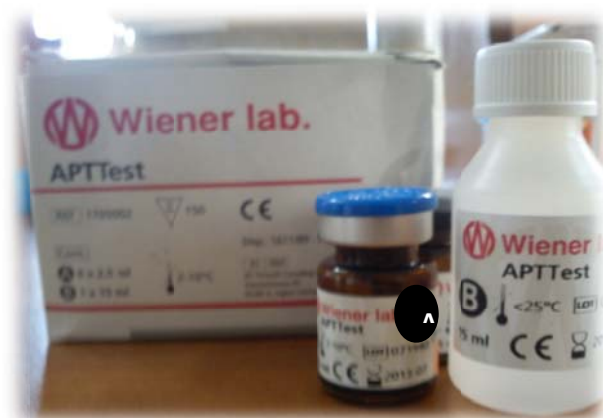
DILUYENTE CELLPACK - ROCHE (Citometría hemática automatizada)



REACTIVO SOLUPLASTIN – WIENER® (Tiempo de Protrombina)



REACTIVO APTTEST – WIENER (Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada)



cefalina
omo
ruro de

SOLUCION DE FORMOL-CITRATO (Recuento eritrocitario)

L

ANEXO N° 20

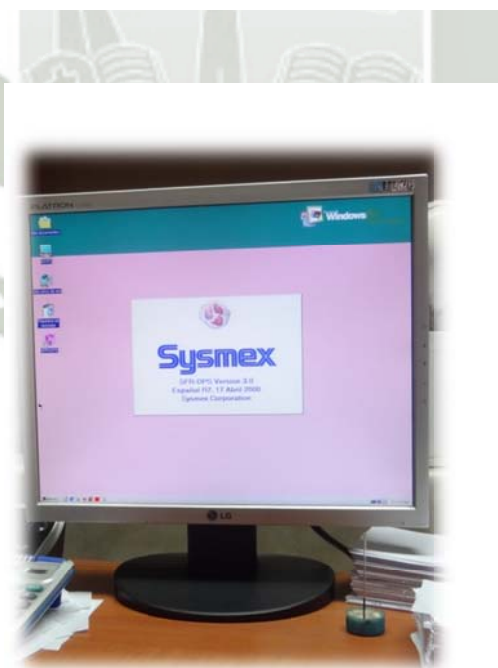
EQUIPOS

UTILIZADOS



Equipo
Automatizado

Hematológico
Sysmex Kx-21n



Software acoplado al Equipo Sysmex kx-21n



Espectrofotómetro Microlab 200



Microcentrífuga Selecta-Mixtasel



Baño María eléctrico con Termostato
incorporado



Pipetas automáticas
(10 , 50 , 100 µL)



Microscopio Óptico

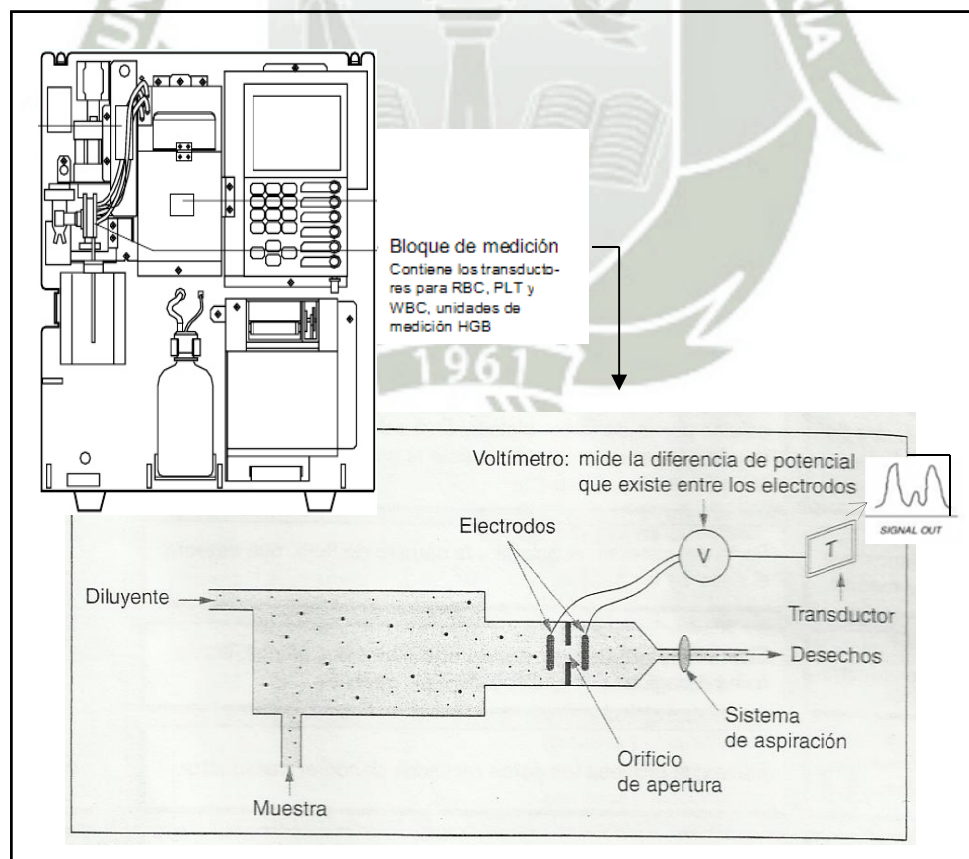


Centrífuga Labofuge 200

MODELO SYSMEX Kx-21n



Principio de Detección: Modelo de uno de los canales de medición del sistema Sysmex Kx-21n con sistema de medida tipo resistencia eléctrica



SYSMEX KX-21N – ESPECIFICACIONES

KX-21N

Parámetros	Sangre entera: WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, PLT, LYM%, MXD%, NEUT%, LYM#, MXD#, NEUT#, RDW-SD, RDW-CV, PDW*, MPV, P-LCR* Sangre prediluida: WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, PLT <i>* En algunos áreas, estos parámetros se utilizan para investigaciones solamente.</i>
Histogramas	Leucocitos (diferencial de 3 partes), hematies y plaquetas
Principio de detección	Método de detección por corriente directa (CD) para los leucocitos, hematies y plaquetas Método de hemoglobina SLS libre de cianuro Método directo de medición del hematocrito (por acumulación de la altura de los pulsos)
Velocidad de trabajo	60 muestras por hora
Volumen de muestra	Sangre entera: 50µl Sangre prediluida: 20µl
Bases de datos	300 resultados completos incluyendo histogramas
Control de calidad	2 programas de control de calidad: control X barra; Levey-Jennings 6 archivos de control de calidad para todos los parámetros del control SYSMEX EIGHTCHECK
Dimensiones A x A x P (cm)	Unidad Principal Aprox: 42 x 48 x 35,5
Peso	28 kg
Opciones de periféricos	Impresora interna térmica (estándar) Impresora gráfica Impresora de línea Computadora central (RS232) Lector de código de barras manual
Energía y consumo	220 VAC +/- 10% ó 120 VAC +/- 10% (50-60 Hz)
Identificación de muestra	15 dígitos
Software en múltiples idiomas	Disponible en: Inglés, Francés, Alemán, Español, Italiano, Portugués, Japonés, Chino

Tecnología innovadora

- Utiliza la misma tecnología que los instrumentos Sysmex para mayor volumen
- Ideal como respaldo de un instrumento Sysmex de 5 partes

Compacto y totalmente integrado

- Ideal para los espacios pequeños del laboratorio
- Puede colocarse encima de una mesa de trabajo
- Un sólo módulo con compresor integrado

Exacto y confiable

- Resultados que ofrecen alta confiabilidad
- Sistema de avisos y alarmas que respaldan un mejor diagnóstico
- Robustez Sysmex que garantiza un menor número de llamadas de servicio

Operación y mantenimiento fácil

- Sin duda, el analizador compacto de manejo más sencillo
- Requiere de entrenamiento mínimo

Seguridad

- Reactivos no tóxicos biodegradables
- Sólo dos reactivos para todas las determinaciones
- Resultados confiables para la tranquilidad de médicos y pacientes

Capacidad de Red

- Fácil transferencia de los datos vía sistema de información del laboratorio (LIS)



Productos Roche S.A.S. e L
Rawson 3150 - Ricardo Rojas
Buenos Aires, Argentina
<http://www.roche.com.ar>
Call Center: 0810-810-5650



MEDIOMÉDICO S.R.L.
diagnóstica

**ESTIMACION DEL RENDIMIENTO ECONOMICO DEL TRIFOSFATO
PENTASODICO DE GRADO TECNICO CON RESPECTO AL EDTA Y
AL CITRATO DE SODIO DE GRADO ANALITICO**

	DISTRIBUIDORAS EN LA CIUDAD DE AREQUIPA	
TRIFOSFATO PENTASODICO Grado Técnico	S/. 6.70 (1kg) S/. 1.10 (100g)	S/. 4.90 (1kg) S/.0.80 (100g)
EDTA DISODICO Grado PA	S/. 290.0 (1kg) S/. 31.0 (100g)	S/. 275.0 (1kg) S/. 25.5 (100g)
CITRATO SODICO Grado PA	S/.98.00 (1kg)	S/. 92.80 (1kg)

Considerando los valores medios de las presentaciones de 100 gramos de cada sustancia y la concentración a la cual se utilizaron en la investigación:

TFPS·GT (5%):

$$100 \text{ g} \rightarrow \text{S/. } 0.95$$

$$5 \text{ g} \rightarrow \text{S/. } x$$

$$X = \text{S/. } 0.05$$

EDTA (10%):

$$100 \text{ g} \rightarrow \text{S/. } 28.30$$

$$10 \text{ g} \rightarrow \text{S/. } x$$

$$X = \text{S/. } 2.83$$

Citrato de Sodio (3.2%):

$$100 \text{ g} \rightarrow \text{S/. } 9.50$$

$$3.2 \text{ g} \rightarrow \text{S/. } x$$

$$X = \text{S/. } 0.30$$

Rendimiento:

$$\text{S/. } 3.13 \rightarrow 100\%$$

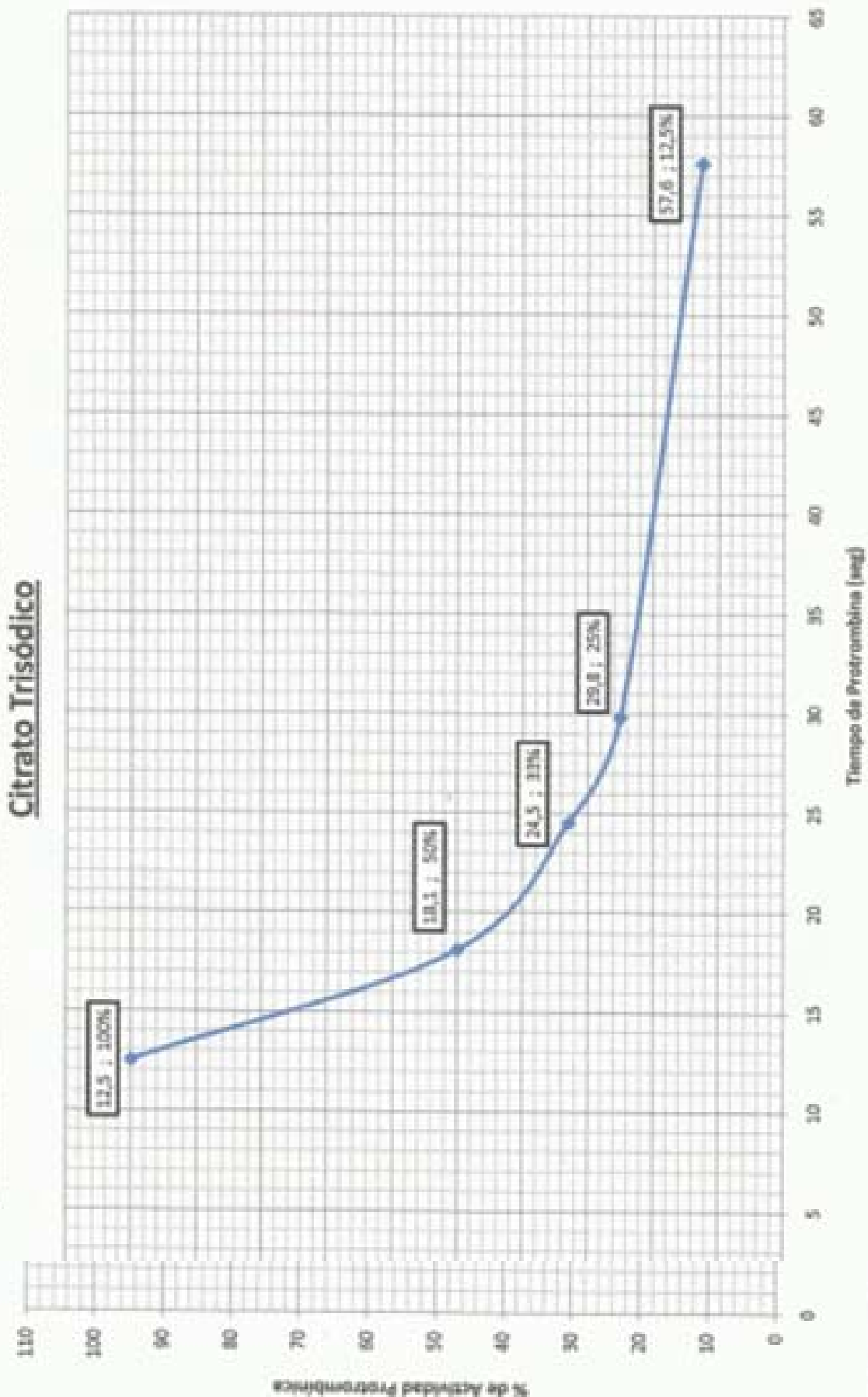
$$\text{S/. } 0.05 \rightarrow X$$

$$X = 1.60\%$$



Rendimiento del 98%
aproximadamente

Curva de Calibración para el Tiempo de Protrombina (SOLUPLASTIN) - Citrato Trisódico



**Curva de Calibración para el Tiempo de Protrombina (SOLUPLASTIN) -
Trifosfato Pentasódico**

