



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
SECCIÓN DE POSGRADO

**CITOMETRÍA HEMÁTICA EN TUBOS EDTA K₂ CON
MUESTRAS INSUFICIENTES ASOCIADO AL TIEMPO DE
PROCESAMIENTO Y ALMACENAJE
HOSPITAL SERGIO ENRIQUE BERNALES 2017**

PRESENTADA POR
DARWIN GALÁN LORO

ASESOR
DRA. GEZEL VÁSQUEZ JIMÉNEZ

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
PARA OPTAR EL TÍTULO DE SEGUNDA ESPECIALIZACIÓN EN
PATOLOGÍA CLÍNICA**

**LIMA – PERÚ
2018**



**Reconocimiento - No comercial - Compartir igual
CC BY-NC-SA**

El autor permite entremezclar, ajustar y construir a partir de esta obra con fines no comerciales, siempre y cuando se reconozca la autoría y las nuevas creaciones estén bajo una licencia con los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
SECCIÓN DE POSGRADO**

**CITOMETRÍA HEMÁTICA EN TUBOS EDTA K₂ CON
MUESTRAS INSUFICIENTES ASOCIADO AL TIEMPO DE
PROCESAMIENTO Y ALMACENAJE
HOSPITAL SERGIO ENRIQUE BERNALES 2017**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
PARA OPTAR
EL TÍTULO DE SEGUNDA ESPECIALIZACIÓN EN
PATOLOGÍA CLÍNICA
PRESENTADO POR
DARWIN GALÁN LORO**

**ASESOR
DRA. GEZEL VÁSQUEZ JIMÉNEZ**

LIMA, PERÚ

2018

ÍNDICE

	Págs.
Portada	i
Índice	ii
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	1
1.1 Descripción del problema	1
1.2 Formulación del problema	2
1.3 Objetivos	2
1.4 Justificación	3
1.5 Viabilidad y factibilidad	4
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	6
2.1 Antecedentes	6
2.2 Bases teóricas	7
2.3 Definición de términos básicos	13
CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES	
3.1 Formulación de la hipótesis	16
3.2 Variables y su operacionalización	17
CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA	18
4.1 Tipos y diseño	18
4.2 Diseño muestral	18
4.3 Técnicas y procedimientos de recolección de datos	19
4.4 Procesamiento y análisis de datos	19
4.5 Aspectos éticos	19
CRONOGRAMA	20
PRESUPUESTO	21
FUENTES DE INFORMACIÓN	22
ANEXOS	
1. Matriz de consistencia	
2. Instrumentos de recolección de datos	
3. Consentimiento informado	

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción del problema

En Europa y en EE.UU., como en gran parte de países con sistemas de salud altamente desarrollados, las decisiones de los médicos generales y especialistas están apoyados en los parámetros emitidos por el laboratorio clínico para validar un diagnóstico presuntivo en los diferentes nosocomios. Una de las pruebas a la que más se recurren, es el hemograma automatizado, debido a su alta precisión y rapidez en la emisión de resultados y parámetros evaluados.

En América Latina, los índices de uso de los hemogramas automatizados junto a sus diversos parámetros hematológicos, son también utilizados con frecuencia sin perder la importancia a la hora de establecer diagnósticos.

En los últimos años, en el Perú se viene implementando, en las diferentes áreas de laboratorio clínico, el uso de equipos automatizados para el procesamiento de los hemogramas. Cabe resaltar que se ha pasado de utilizar un sistema manual a un sistema automatizado, con lo que se ha logrado mejorar el tiempo en la entrega de resultados para que se logre a un diagnóstico más oportuno en beneficio de los pacientes.

Sin embargo, la concentración de dichos valores o parámetros hematológicos de un hemograma completo podrían verse afectados debido a la cantidad insuficiente de muestra venosa obtenida con respecto a la cantidad recomendada por los fabricantes de los tubos EDTA K₂ con sistema al vacío, para mantener una relación óptima entre muestra y anticoagulante.

La recolección insuficiente de muestras, puede deberse a falta de pericia del flebotomista, pacientes nerviosos, pacientes en edad preescolar y escolar que no colaboran en el proceso de obtención de la muestra y en menor medida a

defectos técnicos en los tubos con sistema al vacío. Es, entonces, prioritario considerar si la citometría hemática realizada por un analizador hematológico automatizado puede o no ser afectado, al usar una muestra insuficiente aunada al tiempo en que se procesan y almacenaje de dichas muestras.

Una alteración significativa o relevante en la citometría hemática serviría para establecer cuan precisos pueden terminar siendo los valores obtenidos de los equipos hematológicos automatizados y si logran realmente cubrir los criterios de funcionalidad y utilidad, ya que de no ser así, podría perjudicar la capacidad resolutoria del médico tratante y el consecuente perjuicio económico en que se incurriría por la necesidad de repetir el procesamiento de la prueba en mención (hemograma completo).

El presente estudio pretende establecer la posible variabilidad en la citometría hemática al usar muestras venosas con contenido insuficiente en tubos EDTA K₂ con sistema al vacío.

1.2 Formulación del problema

¿En qué medida una muestra insuficiente de sangre venosa de tubos EDTA K₂ con sistema al vacío, influye en la citometría hemática asociado al tiempo de procesamiento y almacenaje en pacientes de 3 a 17 años que acuden por consulta externa al Hospital Sergio Enrique Bernales 2017?

1.3 Objetivos

Objetivo general

Analizar cómo el tiempo de procesamiento y almacenaje influye en la citometría hemática de muestras insuficientes de tubos EDTA K₂ con sistema al vacío en pacientes de 3 a 17 años que acuden por consulta externa al Hospital Sergio Enrique Bernales 2017.

Objetivos específicos

Describir características del hemograma, según los eritrocitos de muestras sanguíneas insuficientes de tubos EDTA K₂ con sistema al vacío asociado al tiempo de procesamiento y almacenaje en pacientes de 3 a 17 años que acuden por consulta externa al Hospital Sergio Enrique Bernales 2017.

Identificar la variabilidad del hemograma, según los leucocitos concentración de hemoglobina en muestras sanguíneas insuficientes de tubos EDTA K₂ con sistema al vacío asociado al tiempo de procesamiento y almacenaje en pacientes de 3 a 17 años que acuden por consulta externa al Hospital Sergio Enrique Bernales 2017.

Identificar la variabilidad del hemograma, según las plaquetas en muestras sanguíneas insuficientes de tubos EDTA K₂ con sistema al vacío asociado al tiempo de procesamiento y almacenaje en pacientes de 3 a 17 años que acuden por consulta externa al Hospital Sergio Enrique Bernales 2017.

1.4 Justificación

Los resultados emitidos por el laboratorio clínico es muchas veces actor principal en la toma de decisiones para un adecuado diagnóstico; por tanto, la importancia se ve reflejada en cuan veraz y cuan oportuno llegan los resultados al médico tratante. El personal que trabaja en esta área y en especial los patólogos clínicos deben participar activamente en la mejora continua de los procesos (fase preanalítica, analítica y pos analítica), bajo sistemas de gestión de calidad que garanticen la seguridad a los pacientes.

En especial los resultados emitidos por un analizador hematológico automatizado, muchas veces, se tienen que procesar con muestras insuficientes (para tubos EDTA K₂ con sistema al vacío), los cuales están

condicionadas con el anticoagulante EDTA K₂ (Etilendiaminotetracético), impidiendo que el calcio intervenga en la coagulación, fijándolo en forma no ionizada; es utilizado como anticoagulante en hematología de rutina y de urgencia. Es de considerar que dicho anticoagulante está acondicionada para muestras de 3ml y 2ml; sin embargo, en la práctica diaria muchas veces existen dificultades con el volumen final de una muestra en tubos EDTA K₂ con sistema al vacío ya sea por múltiples factores como por ejemplo: acceso venoso difícil, paciente nervioso que involuntariamente mueve su brazo, pacientes en edad preescolar y escolar y otra de menor incidencia el desperfecto de fabricación propio del tubo como la expulsión del mismo antes de que se extraiga la totalidad del volumen establecido.

En el área de toma de muestra de exámenes de rutina del Hospital Sergio E. Bernales, como en cualquier otro hospital de nuestro país, tenemos con relativa frecuencia muestras insuficientes para los tubos EDTA K₂ con sistema al vacío y cuyos resultados deberían ser analizados para evidenciar en qué medida el contenido de anticoagulante podría alterar los resultados de la citometría hemática en aquellas muestras insuficientes de tubos EDTA K₂ con sistema al vacío.

1.5 Viabilidad y factibilidad

Se contó con el permiso otorgado por el área de docencia e investigación del Hospital Nacional Sergio Enrique Bernales para el desarrollo del proyecto de investigación.

Se obtuvo 50 pacientes, en edad preescolar y escolar (3 a 17 años), que acuden por consulta externa al Hospital Nacional Sergio Enrique Bernales en los meses de abril y mayo 2017.

Se contó con el asesoramiento de docentes de la cátedra de metodología de la investigación de la universidad San Martín de Porres para este proyecto de investigación.

Factible, ya que se contó con flebotomistas, y analizador hematológico del Hospital Sergio Enrique Bernales para investigar el problema planteado para este proyecto de investigación. Los recursos financieros y materiales suficientes para las necesidades del desarrollo de la investigación serán autofinanciados.

Como limitaciones mencionar la escasa referencia bibliográfica acerca de variabilidad en la citometría hemática de muestras insuficientes en tubos EDTA K₂ en nuestro país e inexistente información al respecto en el Hospital Nacional Sergio Enrique Bernales.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

En 2012, Lima-Oliveira G et al. realizaron un estudio en Brasil, de tipo cuantitativo y diseño experimental, cuyo objetivo consistió en evaluar el efecto de la mezcla suave versus vigorosa de muestras sanguíneas recolectadas en tubos con sistema al vacío, se incluyó como población de estudio a cien pacientes, a quienes se les extrajo dos tubos de 3,6ml que contenían 0,4ml de sodio tamponado citrato, dos tubos de 3,5ml con activador de coágulos y separador de gel y dos tubos de 3ml con EDTA K₂. Se separaron dos grupos: el primero fue procesado inmediatamente después de la venopunción, se respetó las recomendaciones de inversión suave (de 5 a 10 veces), por cada fabricante, el segundo grupo fue agitado vigorosamente durante 3 a 5 segundos independientemente de los aditivos dentro de los tubos. La investigación determinó que no se detectó diferencia significativa ($p > 0,05$) para todos los parámetros evaluados, se observó espuma y un anillo en la parte superior en los tubos mezclados vigorosamente antes de la centrifugación. Obteniendo como resultado que la cantidad de agitaciones y/o la mezcla vigorosa no afecta los parámetros a evaluarse en las muestras hematológicas (1).

En 2013, Kinga L realizó un estudio en Polonia, de tipo cuantitativo, de diseño experimental, cuyo objetivo fue comparar la biometría hemática entre dos métodos de extracción de sangre venosa (sistema al vacío versus sistema abierto) con tubos con EDTAK₂. Se incluyó como población de estudio a 20 personas clínicamente sanas de 23 y 34 años de edad. La investigación determinó ausencia estadística significativa ($p > 0,05$), para las constantes corpusculares (VCM, CHM y CHCM), siendo significativa ($p < 0,05$), para recuento de glóbulos rojos, glóbulos blancos, hemoglobina, hematocrito y plaquetas que fueron más bajos en el sistema abierto. Sin embargo, estas diferencias clínicamente carecen de importancia por no superar el 5% . Obteniendo como resultado que los parámetros hematológicos podrían verse

alterados si no tienen una adecuada concentración de la muestra con el anticoagulante recomendado por el fabricante (2).

En 2014, Antwi-Baffour S et al. realizaron un estudio en Universidad de Ghana, de tipo cuantitativo y diseño experimental cuyo objetivo fue analizar la morfología y fragilidad osmótica de eritrocitos a intervalos de 24 horas durante 4 días refrigeradas a 4 – 8°C a las cuatro horas de la toma de muestra. Se incluyó como población de estudio a 24 muestras de donantes de sangre aparentemente sanos. La investigación determinó cambios morfológicos del día 2 al cuarto día en hematíes (equinocitosis, esferocitosis, esferocitosis-equinocitosis y fenómeno Rouleaux), e incrementó del porcentaje de hemólisis de los hematíes. Obteniendo como resultado que el análisis de muestras sanguíneas debe realizarse antes de las cuatro horas después de la venopunción (3).

En 2015, Tendulkar A et al. realizaron un estudio en la India, de tipo cuantitativo y diseño experimental, cuyo objetivo fue evaluar la variabilidad de hematíes, hemoglobina, leucocitos y plaquetas. Se incluyó una población de 969 muestras de donantes de plaquetas de 18 a 50 años. La investigación determinó que las muestras analizadas a las cuatro horas, así como las que se almacenaron a 4°C y que fueron procesadas a las 48 y 72 horas no encontraron variación estadística significativa. Obteniendo como resultados que no hubo significancia estadística en la media de valores de hemoglobina y leucocitos; sin embargo en la media del conteo de plaquetas fue estadísticamente significativo ($p < 0,001$), pero no tuvo impacto en los criterios de aceptación de los donantes (4).

En 2015, Schapkaitz E y Pillay D realizaron un estudio en universidad de Sudáfrica, de tipo cuantitativo y diseño experimental, cuyo objetivo fue evaluar la estabilidad del recuento diferencial, reticulocitos y frotis de sangre periférica inducidos por el almacenamiento prolongado. Se incluyó una población de 40 muestras sanguíneas. La investigación determinó en muestras (75% normal y 25% patológicas), almacenadas a temperatura ambiente y otras refrigerada a 4 – 8°C, las muestras a temperatura ambiente se analizaron cada 12 horas

durante dos días, las refrigeradas se realizó a las 12 horas y, posteriormente, cada 24 horas durante siete días. Obtuvieron como resultado que el recuento sanguíneo y diferencial de las muestras a temperatura ambiente se mantuvieron estables 48 horas, leucocitos 36 horas y las plaquetas solo durante 12 horas. Las muestras refrigeradas aumentaron su estabilidad en la mayoría de los parámetros biohemáticos. Sin embargo, los parámetros de recuento diferencial se asociaron con menor estabilidad. Así mismo, la morfología de frotis periférico se ve comprometida antes de las 12 horas en las dos formas de almacenamiento (5).

En 2016, Buoro S et al. *realizaron un estudio en Italia*, de tipo cuantitativo y diseño experimental, cuyo objetivo fue evaluar el impacto del almacenamiento en la estabilidad de las células del hemograma utilizando el analizador hematológico Sysmex XN 9000 y Mindray BC 6800, en muestras almacenadas a temperatura ambiente y a 4°C después de dos, cuatro, seis, ocho, 24, 36 y 48 horas. Se incluyó una población de 10 muestras normales y 40 patológicas. La investigación determinó con la prueba Steel-Dwass-Critchlow-Fligner y por Bland-Altman que eritrocitos, hematócrito, volumen corpuscular medio, concentración media de hemoglobina corpuscular y la amplitud de la distribución eritrocitaria y fracciones de reticulocitos inmaduros mostraron menos estabilidad y su coeficiente de variación crítica fue crítico después de las ocho horas usando los dos analizadores en comparación con los leucocitos y plaquetas que se conservaron mejor. Obtuvieron como resultado que las muestra medidas con ambos analizadores hematológicos no muestran significancia estadística, no hay cambios a las dos horas en los diferentes tipos de almacenaje (4°C y temperatura ambiente). Sin embargo, el máximo tiempo para el análisis se puede extender hasta las ocho horas (6).

2.2 Bases teóricas

Hemograma

Examen de apoyo al diagnóstico en los servicios de emergencia y consultorio externo para profesionales médicos en la que mediante la citometría hemática se obtienen información importante para confirmar o descartar diagnósticos

presuntivos y luego tomar decisiones en cuanto al diagnóstico, tratamiento y pronóstico de las diferentes patologías que afectan a nuestros pacientes. Sin embargo, es de considerar que su interpretación debe ser individualizada para cada paciente, ya que no existen datos de referencia que sean patognomónicos para una determinada enfermedad. El hemograma brinda información como recuento de eritrocitos, plaquetas, leucocitos y su conteo diferencial.

Glóbulo rojo o eritrocito

Célula altamente especializada cuya función es transportar la hemoglobina a todas las células del cuerpo y la remoción del dióxido de carbono producto de la oxidación celular, mide en promedio 7,5 μm , sus valores de referencia son $3,5 - 5,5 \times 10^6 / \text{mm}^3$. su vida media es de 120 días (8).

Índices hematimétricos o corpusculares

Evalúan cualitativamente al eritrocito. El VCM (volumen corpuscular medio), indica tamaño del eritrocito (normocítica, microcítica o macrocítica), se expresa en femtolitros (fl), los valores de referencia es 80 a 100 fl. La HCM (hemoglobina corpuscular media) indica el valor medio del contenido de hemoglobina en cada eritrocito, expresado en picogramos (pg), y CHCM (concentración de hemoglobina corpuscular media) indica la concentración de hemoglobina en un decilitro, calculado en base a la concentración de hemoglobina con el valor del hematocrito, se expresa en g/dL; ambos evalúan el color del eritrocito (normocrómica, hipocrómica o hiperocrómica), con valores de referencia de 27 – 31 pg y 30 – 36 g/dl, respectivamente (8).

RDW o ADE

Ancho de distribución de eritrocitos, expresado en porcentaje (%), es el coeficiente de variación del tamaño eritrocitario, útil en pacientes con anemia; su valor referencial es 37 a 54 % (7).

Reticulocitos

Eritrocito inmaduro que se libera a la sangre, el valor normal es 0,5 a 2 %, el resto se encuentra en la médula ósea (7).

Hematócrito

Porcentaje que ocupa las células en el total de sangre obtenida después de centrifugar una muestra en la que se logra separar plasma y componente celular. Se expresa en porcentaje (%), sus valores de referencia es 47 +/- 7 en varones y en mujeres 42 +/- 5 (7).

Hemoglobina

Transporta oxígeno desde pulmones hacia tejidos y dióxido de carbono de tejidos hacia pulmones; la hemoglobina representa 33% de volumen eritrocitario y 90% del peso seco total de la célula, siendo resultado del equilibrio entre la producción y destrucción del eritrocito en el cuerpo. Valores de referencia es 16 +/- 2 en varones y en mujeres 14 +/- 2 (7).

Plaquetas

Son pequeños fragmentos de citoplasma de los megacariocitos, su valor referencial es de 150 000 a 450 000 x mm³. Participa en la hemostasia primaria. Miden 2 a 3 u; su vida media es de 10 días (7).

Leucocitos

Células sanguíneas heterogéneas ejecutoras de la respuesta inmunitario, siendo la defensa del organismo contra agentes extraños. Inicia en la médula ósea como promieloblasto, promielocito, mielocito, metamielocito, banda y finalmente segmentados, sus valores de referencia es de 4 000 a 12 000 xmm³. Su tamaño de 8 a 20 um. Tienen dos linajes definidos, el mielóide (neutrófilos, monocitos, eosinófilos y basófilos), y el linaje linfóide (linfocitos T, linfocitos B, y células natural killer) (7).

Neutrófilos

Primeros en actuar contra infecciones bacterias u hongos, su muerte forma el pus, tiene núcleo multilobulado (leucocito polimorfonuclear), representa del 60 – 70% de leucocitos totales. Vida media de 5,4 días. Miden de 10 a 12 u (7).

Monocitos

La función principal es la de fagocitar junto a los neutrófilos, se convierten en

macrófagos en los tejidos, su núcleo grande de forma arriñonada sin gránulos con abundante citoplasma con pequeños pseudópodos y algunas vacuolas. Representa el 8.6 a 10% de los leucocitos, miden 18 u y su vida media es de 3 días (8).

Eosinófilos

Producidos en la médula ósea, antes de pasar a los tejidos donde se localizan; permanecen unas horas en sangre periférica, controlan infecciones parasitarias, procesos inflamatorios y predominantes ante un proceso alérgico por tener función antihistamínica evitando el edema y espasmo del músculo liso, pueden fagocitar complejos antígeno anticuerpo y usar sus enzimas para destruir proteínas extrañas, realizan una fagocitosis frustrada con los parásitos ya que no los pueden ingerir, pero atacan vertiendo el contenido de sus gránulos sobre ellos; participa en reacciones de hipersensibilidad tipo 1 (anafilaxia), poseen núcleo bilobulado con citoplasma lleno de gránulos que se tiñen de anaranjado con coloración Wright o Romanosky. Representan 1,4 a 4,8 % de leucocitos y miden 10 a 12 u (8).

Basófilos

Responsables de respuesta alérgica, al liberar histamina vasodilatan los vasos sanguíneos, poseen núcleo bi o trilobulado y gránulos gruesos que se tiñen de color morado oscuro con coloración Wright o Romanosky. Representan de 0 a 0,3% de leucocitos y miden de 10 a 12 u (8).

Linfocitos

De mayor cuantía en sistema linfático que en el torrente sanguíneo, son células inmunocompetentes; su núcleo con localización excéntrica y con escaso citoplasma de color azul. Representan de 25,7 a 27,6 % de leucocitos y miden de 6 a 30 u (7).

Clasificación de citometría hemática alterada

Leucocitosis

Incremento cuantitativo leucocitos circulantes superior a 12 000 por mm³. Fisiológicamente se manifiesta los recién nacidos (hasta 30 000 por mm³),

después de actividades físicas, en situaciones de miedo y agitación, períodos ovulatorios, en procesos infecciosos e inflamatorios, neoplasias, acidosis, anoxia, convulsiones, sangrados agudos y enfermedades hematológicas (7).

Neutrofilia

Incremento de polimorfonucleares mayor a 7 000 por mm³. Comúnmente en procesos infecciosos agudos y transitorios, así mismo al comienzo de las infecciones causadas por virus (7).

Reacción leucemoide granulocítica

Incremento de leucocitos que superen los 50 000 por mm³ y/o desviación izquierda con presencia de células inmaduras (mielocitos, promielocitos y raramente, mieloblastos). En general, no se observa anemia ni trombocitopenia. En edad infantil la causa más común son las infecciones bacterianas (infecciones pulmonares y urinarias). La leucemia mieloide crónica (rara en la infancia), se puede considerar como diagnóstico diferencial siendo la tinción histoquímica para fosfatasas alcalinas útil para diferenciarlas; positiva en casos de reacción leucemoide y un tanto débil, opaca o negativa en leucemia mieloide crónica (7).

Eosinofilia

Aumento de eosinófilos superior a 500 por mm³. En la infancia muy común cuando existen parásitos en contacto con la sangre (áscaris, larva migrante de toxocara canis o catis, triquina, distoma hepático, anquilostoma, sarcoptes scabiei), procesos alérgicos (asma, urticarias y eczema), penicilinas, aminoglicósidos, cefalosporinas, ferrotterapia y otras; así como, enfermedades granulomatosas del mesénquima, en estadios de cirrosis hepática, neoplasias y post radioterapia (7).

Linfocitosis

Aumento de linfocitos mayores a 4000 por mm³.

La linfocitosis relativa (linfocitos mayores a 50% con leucocitos disminuidos, normales o poco aumentados), es frecuente en la infancia asociados a

infecciones virales (respiratorias, digestivas o exantemáticas), con aproximadamente 10% de linfocitos atípicos o hiperbasófilos. En menor frecuencia se presenta en fiebre tifoidea, brucelosis o incluso en casos de tuberculosis (7).

La Linfocitosis absolutas ($>10\ 000$ linfocitos por mm^3 , y leucocitos $>50\ 000$ por mm^3). Coqueluche, adenovirus tipo 12, linfocitosis infecciosa, mononucleosis infecciosa cursan generalmente con linfocitosis absoluta. La mononucleosis infecciosa presenta 20% de linfocitos de tamaño mediano o grandes hiperbasófilos en la 2ª semana de evolución. Se puede encontrar con menor frecuencia en toxoplasmosis, enfermedad por citomegalovirus, hepatitis infecciosa, y medicamentos (PAS, hidantoínicos) (7).

Monocitosis

Incremento de monocitos >1000 por mm^3 , en lactantes hasta los dos años, y >800 monocitos por mm^3 en preescolares y escolares. En adultos por lo general cursan acompañados de linfocitosis y eosinofilia en cuadros convalecientes de enfermedades infecciosas (neumonías e infecciones crónicas granulomatosas como TBC o Hodgkin), infecciones virales y en infecciones por gérmenes intracelulares (Brucelosis, Listeria monocitógena). La monocitosis es considerado como signo de gravedad en infecciones severas, principalmente en casos tales como la sepsis del lactante (7).

Leucopenias

Disminución de leucocitos (<4000 por mm^3), pudiendo presentar disminución relativa o incluso absoluta de neutrófilos y/o linfocitos (7).

Diagnóstico de citometría hemática

Existe poca referencia bibliográfica a cerca de la citometría hemática, sin embargo, dentro de la variabilidad de citometría hemática se tiene como conclusión poca significancia estadística entre el conteo celular de serie roja y serie blanca pero considerable para el conteo de plaquetas (2)(3)(4)(5)(6).

Pronóstico

Favorable, ya que los resultados son de mucha ayuda para la fase preanalítica del área de hematología.

Manejo

Los resultados son de mucha utilidad para superar las dificultades que se presenten tanto en la fase preanalítica y analítica del área de hematología.

2.3 Definición de términos básicos

Citometría hemática: Conteo celular de una muestra sanguínea mediante un analizador hematológico. Este proceso puede realizarse manualmente con ayuda de microscopio, analizadores hemáticos semiautomatizados y automatizados.

Tubos EDTA K₂ con sistema al vacío: Tubos con anticoagulante EDTA K₂ (Etilendiaminotetracético), que impide la acción del calcio en la cascada de coagulación, fijándolo en forma no ionizada, ideal para el estudio celular del hemograma. El etilendiaminotetracético utilizado en los tubos tiene la proporción establecida por el fabricante para dos presentaciones de 3 ml y 2 ml de muestra respectivamente.

Muestra de sangre: Fluido líquido de color rojo donde encontramos células que pueden ser cuantificadas.

Muestra de sangre insuficiente: Volumen final de muestra menor al requerido o recomendado por el fabricante de tubo EDTA K₂ con sistema al vacío, generalmente ocasionado por las dificultades que encuentran los flebotomistas en toma muestra por múltiples factores como personas en edad escolar, personas ansiosas y en menor incidencia defectos en la fabricación de dicho material.

Analizador hematológico automatizado: Equipo biomédico que procesa muestras sanguíneas obteniendo como resultado un recuento celular y

diferencial de la serie blanca, recuento celular de serie roja y recuento de plaquetas

Células de serie roja: Células llamadas glóbulos rojos o eritrocitos.

Células de serie blanca: Células llamadas glóbulos blancos o leucocitos. Se clasifican en granulocitos (neutrófilos, Eosinófilos y basófilos), y agranulocitos sin gránulos (linfocitos y monocitos).

Plaquetas: También llamadas trombocitos son los fragmentos de citoplasma de megacariocitos.

CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1 Formulación de la hipótesis

La muestra insuficiente de sangre venosa de tubos EDTA K₂ con sistema al vacío asociado al tiempo de procesamiento y tipo de almacenaje no altera la citometría hemática en el Hospital Nacional Sergio Enrique. Bernales.

3.2 Variables y su operacionalización

VARIABLE		DEFINICIÓN	TIPO POR SU NATURALEZA	INDICADOR	ESCALA DE MEDICIÓN	CATEGORÍA Y SUS VALORES	MÉTODO DE VERIFICACIÓN
Variable principal WBC (Leucocitos)	Leucocitos	Célula ejecutora de respuesta inmunitaria	Cualitativa	x mm ³	Ordinal	Sin alteración con alteración 3 600 – 11 000	Reporte de hemograma
	Neutrófilos	Primeras en actuar contra infecciones bacteriana u hongos	Cualitativa	%	Ordinal	Sin alteración con alteración 40 – 78	Reporte de hemograma
	Linfocito	Mas comunes en el sistema linfático	Cualitativa	%	Ordinal	Sin alteración con alteración 20 – 50	Reporte de hemograma
	Monocitos	Remueven restos de células muertas, se convierten en macrofagos en los tejidos	Cualitativa	%	Ordinal	Sin alteración con alteración 2 – 10	Reporte de hemograma
	Eosinofilo	Células inflamatorias predominates durante una reacción alérgica	Cualitativa	%	Ordinal	Sin alteración con alteración 1 – 5	Reporte de hemograma
	Basófilo	Responsables de respuesta alérgica, liberan histamina	Cualitativa	%	Ordinal	Sin alteración con alteración 0 – 2	Reporte de hemograma
Variable principal RBC (Eritrocitos)	Eritrocitos	Célula que transporta la Hemoglobina	Cualitativa	x mm ³	Ordinal	Sin alteración con alteración 3 900 000 – 6 000 000	Reporte de hemograma
	HB	Transportador de oxígeno desde pulmones a tejidos	Cualitativa	g/dl	Ordinal	sin alteración con alteración 12 – 17,8	Reporte de hemograma
	HTO	Porcentaje de que ocupan las células en el total de sangre	Cualitativa	%	Ordinal	sin alteración con alteración 36 - 54	Reporte de hemograma
	VCM	Evalúa cualitativamente al eritrocito	Cualitativa	um ³	Ordinal	sin alteración con alteración 80 – 100	Reporte de hemograma
	HCM	Evalúa cualitativamente al eritrocito	Cualitativa	pg	Ordinal	sin alteración con alteración 27 – 33	Reporte de hemograma
	CHCM	Evalúa cualitativamente al eritrocito	Cualitativa	g/dl	Ordinal	sin alteración	Reporte de hemograma

						con alteración 32 - 36	
Variable principal PLT (Plaquetas)	Plaquetas	Participa en la hemostasia primaria	Cualitativa	x mm3	Ordinal	Sin alteración con alteración 150 000 – 450 000	Reporte de hemograma
Variable interviniente TIEMPO DE PROCESO DE MUESTRA INSUFICIENTE	6 horas	Primera lectura	Cualitativa	Indicador según tipo de célula	Ordinal	sin alteración: < 5% de variabilidad con alteración: > a 5% de variabilidad	Reporte de hemograma
	12 horas	Segunda lectura	Cualitativa	Indicador según tipo de célula	Ordinal	sin alteración: < 5% de variabilidad con alteración: > a 5% de variabilidad	Reporte de hemograma
	24 horas	Tercera lectura	Cualitativa	Indicador según tipo de célula	Ordinal	sin alteración: < 5% de variabilidad con alteración: > a 5% de variabilidad	Reporte de hemograma
Variable interviniente ALMACENAJE DE MUESTRA INSUFICIENTE	Ambiente	Muestra a temperatura ambiente	Cualitativa	Indicador según tipo de célula	Ordinal	sin alteración: < 5% de variabilidad con alteración: > a 5% de variabilidad	Reporte de hemograma
	4°C	Muestra refrigerada	Cualitativa	Indicador según tipo de célula	Ordinal	sin alteración: < 5% de variabilidad con alteración: > a 5% de variabilidad	Reporte de hemograma

CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA

4.1 Tipos y Diseño

Según la intervención del investigador: Experimental.

Según el alcance: Analítico de casos y control.

Según el número de mediciones de la o las variables de estudio:
Longitudinal.

Según el momento de la recolección de datos: Prospectivo.

Diseño: Mixto.

4.2 Diseño muestral

Población universo

Pacientes de 3 a 17 años que cuenten con una orden de hemograma atendidos en consultorio externo del Hospital Nacional Sergio Enrique Bernales 2017.

Población de estudio

50 Pacientes de 3 a 17 años con orden de hemograma de consultorio externo del Hospital Nacional Sergio Enrique Bernales.

Tamaño de la muestra

50 Pacientes de 3 a 17 años con orden de hemograma de consultorio externo del Hospital Nacional Sergio Enrique Bernales 2017.

Muestreo o selección de la muestra

El muestreo fue no probabilístico.

Criterios de selección

Criterios de inclusión

- Muestras insuficientes de sangre venosa de tubos EDTA K₂ con sistema al vacío

Criterios de exclusión

- Muestras insuficientes de sangre venosa de tubos EDTA K₂ con sistema al vacío con presencia de coágulo.

4.3 Técnicas y procedimiento de recolección de datos

Se utilizará un registro de cada lectura obtenida por el analizador hematológico automatizado y luego se analizará la variabilidad de la citometría hemática.

Procedimiento de recolección de datos

El procedimiento de recolección de datos se efectuará en el servicio de Hematología del Hospital Sergio Enrique Bernales. Se inicia con un registro basal antes de las dos horas de la obtención de la muestra, luego es trasvasada a dos tubos EDTA K₂ y así obtener dos grupos de muestras “insuficientes”, el primer grupo será almacenado a temperatura ambiente y el segundo grupo a 4°C. Posteriormente se hace lectura de los registros a las 6, 12 y 24 horas.

4.4 Procesamiento y análisis de datos

El procesamiento de datos obtenidos se realizará mediante estadística descriptiva la mediana aritmética, desviación estándar y coeficiente de variación, utilizando el software estadístico SPSS versión 23.

La hipótesis será verificada con Prueba de T Student y Anova.

4.5 Aspectos éticos

Se cuenta con la autorización del área de Docencia e Investigación para usar la aplicación del instrumento de recolección de datos de mi proyecto de investigación, realizado en el servicio de hematología del Hospital Nacional Sergio Enrique Bernales 2017.

Se utilizará el documento de consentimiento informado, para los participantes, para contar con su participación de forma voluntaria.

CRONOGRAMA

Actividades	Enero 2018				Marzo 2018				Abril 2018				Mayo 2018				Junio 2018			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Presentación del proyecto de Investigación	x	x	x	X																
Recolección de datos bibliográficos					x	x	X	X												
Definición de los grupos									x	x	x	x								
Toma de muestras													x	x	X	x	x	x	x	x
Análisis de la información																	x	x	X	
Revisión de resultados																		x	x	
Elaboración de informe final																		x	X	
Presentación de resultados																				x

PRESUPUESTO

Rubro	Detalle	Monto
Asesoría	Metodólogo	500
	Estilo	500
	Estadístico	500
Utilería	Papel	50
	Tinta	150
	Lapiceros	10
	Lápices	5
	Folder	30
	Corrector	10
	Borrador	10
	Servicios	Internet
	Imprenta	350
	Empaste	350
Mantenimiento	Impresora	200
	Laptop	200
Total		S/3,065.00

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Lima-Oliveira Gabriel, L. (2012). Effects of vigorous mixing of blood vacuum tubes on laboratory test results. *Clinical Biochemistry* (46): 250-254.
2. Kinga Lis. (2013). Influence of method of venous blood collection on the blood cell count determination result. *Studia Medyczne*, 251 -254.
3. Samuel Antwi-Baffour (2014). Prolong storage of blood in EDTA has an effect on the morphology and osmotic fragility of erythrocytes. *International Journal of Biomedical Science and Engineering*, 1 (2): 20-23.
4. Anita Tendulkar, (2015). Stability of Selected Hematological Parameters in Stored Blood Samples. *Cell Science & Therapy*, 3-5.
5. Elise Schapkaitz and Dashini Pillay, (2015). Prolonged storage-induced changes in haematology parameters referred for testing. *AOSIS Open Journals*, 2-8.
6. Sabrina Buoro, (2016). Assessment of blood sample stability for complete blood count using the Sysmex XN-9000 and Mindray BC-6800 analyzers. *Revista Brasileira de Hematología e hemoterapia*, 225 – 239.
7. Dr Olga López Odría, (2015). Interpretación de lámina periférica y hemograma automatizado.
8. Carmen B. Naranjo Aristizábal, (2008). Atlas de hematología de células sanguíneas.

ANEXOS

1. Matriz de consistencia

TÍTULO	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	TIPO Y DISEÑO DE ESTUDIO	POBLACIÓN DE ESTUDIO Y PROCESAMIENTO DE DATOS	INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS
CITOMETRÍA HEMÁTICA EN TUBOS EDTA K ₂ CON MUESTRAS INSUFICIENTES ASOCIADO AL TIEMPO DE PROCESAMIENTO Y ALMACENAJE EN HOSPITAL SERGIO ENRIQUE BERNALES 2017	¿En qué medida una muestra insuficiente de sangre venosa de tubos EDTA K ₂ con sistema al vacío influye en la citometría hemática asociado al tiempo de procesamiento y almacenaje en pacientes de 3 a 17 años que acuden por consulta externa al Hospital Sergio E. Bernales 2017?	Objetivo general Analizar como el tiempo de procesamiento y almacenaje influye en la citometría hemática de muestras insuficientes de tubos EDTA K ₂ con sistema al vacío en pacientes de 3 a 17 años que acuden por consulta externa al Hospital Sergio Enrique Bernales 2017.	La muestra insuficiente de sangre venosa de tubos EDTA K ₂ con sistema al vacío asociado al tiempo de procesamiento y tipo de almacenaje no altera la citometría hemática en el Hospital Nacional Sergio Enrique Bernales.	El presente estudio es de tipo transversal y diseño cuasi-experimental	50 muestras de pacientes de 3 a 17 años que ingresan con solicitud de hemograma al servicio de hematología del Hospital Sergio Enrique Bernales	Reporte de hemograma del analizador hematológico automatizado en cada intervención.

		<p>Objetivos específicos</p> <p>Describir las características del hemograma según los eritrocitos de muestras sanguíneas insuficientes de tubos EDTA K₂ con sistema al vacío asociado al tiempo de procesamiento y almacenaje en pacientes de 3 a 17 años que acuden por consulta externa al Hospital Sergio Enrique Bernales 2017.</p> <p>Identificar la variabilidad del hemograma según los leucocitos en muestras sanguíneas insuficientes de tubos EDTA K₂ con sistema al vacío asociado al tiempo de procesamiento y almacenaje</p>			<p>El procesamiento de datos obtenidos se realizará mediante estadística descriptiva la mediana aritmética, desviación estándar y coeficiente de variación.</p> <p>La hipótesis será verificada con Prueba de T Student y Anova</p>	
--	--	--	--	--	---	--

		<p>en pacientes de 3 a 17 años que acuden por consulta externa al Hospital Sergio Enrique Bernales 2017.</p> <p>Identificar la variabilidad del hemograma según las plaquetas en muestras sanguíneas insuficiente s de tubos EDTA K₂ con sistema al vacío asociado al tiempo de procesamiento y almacenaje en pacientes de 3 a 17 años que acuden por consulta externa al Hospital Sergio Enrique Bernales 2017.</p>				
--	--	---	--	--	--	--

2. Instrumentos de recolección de datos

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DE CITOMETRÍAS HEMÁTICA

Fecha

Hora de toma de muestra

Condición del paciente

Edad del Paciente

ID. Paciente

PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS	Hemograma Basal	TEMPERATURA AMBIENTE			4° CENTIGRADOS		
		6 horas	12 horas	24 horas	6 horas	12 horas	24 horas
GLOBULOS ROJOS							
HB							
HTO							
VCM							
HCM							
CHCM							
Glóbulos blancos							
Neutrófilos							
Linfocitos							
Monocitos							
Eosinófilos							
Basófilos							
PLAQUETAS							
VPM							
PCT							
IDEP							

3. Consentimiento informado

PROTOCOLO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPANTES

La presente investigación es conducida por MR Darwin Galan Loro, de la Sección de posgrado de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres. La meta de éste estudio es realizar una toma de muestra para realizar la prueba de hemograma completo y describir la variabilidad de los eritrocitos, leucocitos y plaquetas en muestras insuficientes. Si usted accede a participar en este estudio se le pedirá que responda a una entrevista que le tomará 15 minutos de su tiempo.

Su participación será voluntaria. La información que se recoja será estrictamente confidencial y no se podrá utilizar para ningún otro propósito que no esté contemplado en esta investigación

Si tuviera alguna duda con relación al desarrollo de la investigación, usted es libre de formular las preguntas que considere pertinentes. Además, puede finalizar su participación en cualquier momento del estudio sin que esto represente algún perjuicio para usted. Si se siente incómoda o incómodo, frente a alguna de las preguntas, puede abstenerse de responder.

Muchas gracias por su participación.

Yo, _____

Doy mi consentimiento para participar en el estudio y soy consciente de que mi participación es enteramente voluntaria.

He recibido información en forma verbal sobre el estudio mencionado. He tenido la oportunidad de discutir sobre el estudio y hacer preguntas.

Al firmar este protocolo, estoy de acuerdo con que mis datos personales, incluyendo datos relacionados a mi salud física y mental o condición, y etnicidad u origen étnico, puedan ser usados según lo descrito en la hoja de información que detalla la investigación en la que estoy participando.

Entiendo que puedo finalizar mi participación en el estudio en cualquier momento, sin que esto represente algún perjuicio para mí.

Entiendo que recibiré una copia de este formulario de consentimiento e información del estudio y que puedo pedir información sobre los resultados de este estudio cuando se haya concluido. Para esto, puedo comunicarme médico Darwin Galan Loro.

Dentro de los beneficios está la contribución al desarrollo de la investigación, la cual servirá de aporte científico a la mejora continua con resultados que podrán extenderse a ámbitos nacionales, a partir de una universidad de Lima Metropolitana.

.....

Nombre y Apellidos

.....

firma y fecha

.....

Darwin Galan Loro
MR Patología Clínica

.....

firma y fecha