

UNIVERSIDAD PRIVADA DE TACNA

ESCUELA DE POSTGRADO

MAESTRÍA EN INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA E INNOVACIÓN



**TRIPOLIFOSFATO DE SODIO COMO ALTERNATIVA DE ANTICOAGULANTE
PARA EXÁMENES HEMATOLÓGICOS Y DE COAGULACIÓN PARA UN
LABORATORIO PRIVADO DE TACNA 2017**

TESIS

Presentado por:

Br. Mady Canelú Ramos Rojas

Asesor:

Dr. Pedro Cárdenas Ruedas

Para Obtener el Grado Académico de:

MAESTRO EN INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA E INNOVACIÓN

TACNA – PERÚ

2018

AGRADECIMIENTOS

A cada uno de mis maestros del Post grado de Investigación Científica e Innovación de la Universidad Privada de Tacna, por haber brindado parte de su tiempo y conocimientos para mi formación como investigadora, y sobre todo por ser maravillosas personas con gran sencillez y sabiduría, que siempre estuvieron dispuestas a apoyarnos, y que hoy somos grandes amigos.

De manera muy especial a la Doctora Norma Velásquez Rodríguez, no solo por brindarme su apoyo incondicional durante el proceso de la realización de mi tesis, sino también por mostrar su parte más humana y sensible de ser humano al brindar su tiempo, conocimientos y experiencias fuera de las aulas, y a pesar de tantos reconocimientos, conservar la humildad que la caracteriza. Gracias por ser maestra y amiga.

DEDICATORIA

A mi madre, que es la persona que en silencio y sin comprender bien mi trabajo, espera pacientemente que vuelva a casa día tras día; quien sacrifica noches, feriados y días festivos a mi lado porque sabe que estoy donde otros me necesitan; gracias por estar en los momentos más difíciles y darme la fuerza para superar las adversidades.

Y a mi padre, que durante su vida confió y apoyó cada uno de mis pasos, y me enseñó a amar y respetar mi trabajo; ahora es un ángel que guía mi camino y cada uno de las decisiones que tomo. Un abrazo hasta el cielo.

INDICE DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN	01
CAPÍTULO I	
1. El problema	03
1.1 Planteamiento del problema	03
1.2 Formulación del problema	05
1.3 Justificación de la investigación	05
1.4 Objetivos de la investigación	07
1.5 Conceptos básicos	07
1.6 Antecedentes de la investigación	09
CAPITULO II	
2. Fundamento teórico científicas	13
2.1 Tripolifosfato de sodio	13
2.2 Cantidad y concentración	17
CAPÍTULO III	
3. Marco metodológico	21
3.1 Hipótesis	21

3.2 Variables	22
3.2.1 Variable dependiente	22
3.2.2 Variable independiente	25
3.3 Tipo de investigación	25
3.4 Diseño de la investigación	26
3.5 Ámbito de estudio	27
3.6 Población y muestra	27
3.6.1 Unidad de estudio	27
3.6.2 Población	28
3.7 Técnicas e instrumentos	28
3.7.1 Técnicas	28
3.7.2 Instrumentos	28
CAPÍTULO IV	
4. Los resultados	30
4.1 Descripción del trabajo de campo	30
4.2 Prueba estadística	34
4.3 Diseño de la presentación de los resultados	36

4.4 Presentación de los resultados	37
4.5 Comprobación de hipótesis (discusión)	48
CAPÍTULO V	
5. Conclusiones y recomendaciones	51
5.1 Conclusiones	51
5.2 Sugerencias o propuesta	52
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
ANEXOS	58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Interpretación del índice Kappa	35
Tabla 2. Pacientes tamizados según diversas variables	37
Tabla 3. Evaluación de la conservación de la cantidad en pacientes analizados	38
Tabla 4. Evaluación de la conservación del tamaño	39
Tabla 5. Evaluación de la conservación de la coloración	40
Tabla 6. Evaluación de la conservación de la madurez	41
Tabla 7. Evaluación de la conservación de la distribución	42
Tabla 8. Evaluación de la conservación de los antígenos eritrocitarios	43
Tabla 9. Evaluación de la conservación de los factores de coagulación	44
Tabla 10. Hallazgos morfológicos en lámina periférica en función al tiempo	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tripolifosfato de sodio al 99% de pureza	31
Figura 2. Tubos con citrato de sodio al 3,2%, con EDTA K2 y con TPF al 5% respectivamente	31
Figura 3. Equipo hematológico automatizado Mindray BC-5 380 de cinco extirpes	32
Figura 4. Antisueros anti -A, anti -B y anti -D respectivamente	33
Figura 5. Equipo de coagulometría semiautomatizado MD PACIFIC 6 000	33
Figura 6. Agregación plaquetaria ocasionada por el TPF	46
Figura 7. Muestras sanguíneas a las 4 horas de la toma de muestra. (a) Hematíes conservados y neutrófilos con TPF. (b) Microcitos y equinocitos en muestra con EDTA	47
Figura 8. Muestras sanguíneas a las 4 horas de la toma de muestra. (a) Eosinófilo degranulado en muestra con EDTA. (b)Eosinófilo y linfocito conservado con TPF	47
Figura 9. Muestra sanguínea con TPF de un paciente con presencia de Rouleaux	47
Figura 10. Muestra sanguínea con TPF donde se observa bastón de Auer en un paciente con leucemia mieloide	48

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue determinar la efectividad de Tripolifosfato de Sodio como anticoagulante para exámenes hematológicos y de coagulación en un Laboratorio Privado de Tacna. Se realizó un análisis piloto para hallar la concentración y la relación de sangre/anticoagulante con la que se trabajaría el TPF, siendo el adecuado a una concentración del 5% en una relación 1:30, utilizando el TPF a un 99% de pureza. Se extrajeron dos muestras de sangre venosa a cada paciente, en la primera se extrajo 6,7 ml de sangre en tubos con anticoagulantes protocolizados (EDTA y citrato de sodio), en la segunda se extrajo 3 ml de sangre en tubo con Tripolifosfato de sodio al 5%. Las muestras con EDTA y citrato de sodio fueron utilizadas como grupo control para comparar sus resultados con los obtenidos con el Tripolifosfato de sodio, que es el grupo experimental. Al comparar los resultados obtenidos en todos los análisis realizados, se encontró que la sangre anticoagulada con TPF obtuvo resultados estadísticamente similares a los anticoagulantes protocolizados, pudiendo utilizarse este nuevo compuesto para la determinación de análisis hematológicos y de coagulación haciendo uso de un solo tubo de muestra que reduzca notablemente la cantidad de sangre extraída, favoreciendo considerablemente a los pacientes y a la empresa que lo utilice.

ABSTRACT

The objective of the present investigation was to determine the effectiveness of Sodium Tripolyphosphate as anticoagulant for hematological and coagulation tests in a Private Laboratory of Tacna. A pilot analysis was carried out to find the concentration and the blood / anticoagulant ratio with which the Sodium Tripolyphosphate would be worked, being the right one at a concentration of 5% in a 1:30 ratio, using the Sodium Tripolyphosphate at 99% purity. Two samples of venous blood were extracted to each patient, in the first one 6.7 ml of blood was extracted in tubes with protocolized anticoagulants (EDTA and sodium citrate), in the second one 3 ml of blood was extracted in tube with sodium tripolyphosphate. to 5%. The samples with EDTA and sodium citrate were used as a control group to compare their results with those obtained with sodium tripolyphosphate, which is the experimental group. When comparing the results obtained in all the analyzes carried out, it was found that blood anticoagulated with Sodium Tripolyphosphate obtained statistically similar results to the protocolized anticoagulants, this new compound being able to be used for the determination of hematological and coagulation analyzes using a single sample tube, that dramatically reduces the amount of blood drawn, considerably favoring patients and the company that uses it.

INTRODUCCIÓN

Los análisis de hematología y de coagulación son exámenes que se realizan en todos los laboratorios de emergencia y rutina por ser indispensables para el diagnóstico, seguimiento y tratamiento de diversas patologías. Para realizar los exámenes hematológicos, se necesita extraer 4 ml de sangre en un tubo que contenga EDTA; y 2,7 ml de sangre en un tubo con citrato de sodio para los exámenes de coagulometría; cantidades que tienen que ser exactas para mantener la relación sangre/anticoagulante y así garantizar la confiabilidad de los resultados; haciendo un total de 6,7 ml de sangre extraída.

En caso de los neonatos, niños, y pacientes críticos como los oncológicos, está contraindicada la extracción de grandes cantidades de sangre por la condición que presentan; por tal motivo diversos autores han querido hallar el “anticoagulante universal” que cumpla la función del EDTA y citrato de sodio al mismo tiempo, con la finalidad que se pueda realizar estos análisis con el uso de un solo tubo que reduzca la cantidad de sangre extraída y pueda reemplazar a los anticoagulantes protocolizados a nivel nacional.

Es así que la presente investigación se basa en comprobar la efectividad del Tripolifosfato de sodio como anticoagulante universal, realizando los análisis hematológicos como hemograma, lectura de lámina periférica y grupo sanguíneo, y los exámenes de coagulometría como tiempo de protrombina, tiempo parcial de tromboplastina activada y fibrinógeno a pacientes con diferente sexo, diversas edades y patologías, comparando los resultados y observando su similitud entre el grupo experimental (Tripolifosfato de sodio) y el grupo control (anticoagulantes protocolizados).

La similitud en los resultados comprobaría que el Tripolifosfato de sodio mantiene la integridad de los elementos formes de la sangre para la realización de los exámenes hematológicos, y preserva los factores de coagulación lábiles para la realización de los análisis de coagulometría; propiedades indispensables que debe tener el “anticoagulante universal” para poder reemplazar a los anticoagulantes protocolizados; además el uso de este nuevo compuesto no solo reduciría la cantidad de sangre extraída, sino también, beneficiaría la empresa que lo utilice debido a que es de menor costo y de fácil preparación, ideal para laboratorio pequeños y que tengan gran variedad de pacientes.

CAPÍTULO I

1. EL PROBLEMA

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los últimos diez años, diversas investigaciones han buscado nuevas alternativas que permita disminuir la cantidad de sangre extraída, sobre todo teniendo en consideración a prematuros, neonatos, lactantes y aquellos pacientes críticos como los oncológicos, que como lo menciona Gómez et al. (1) les está contraindicada la extracción de gran cantidad de sangre, evitando que se pueda realizar todos los exámenes solicitados.

Los análisis hematológicos y de coagulación son exámenes indispensables que se utilizan tanto en el laboratorio de rutina como de emergencia, ya que aportan parámetros que son indispensables para el diagnóstico, seguimiento y tratamiento de diversas patologías. Para poder realizar de manera correcta estos exámenes, Rodak et al. (2) afirman que es necesario la extracción de sangre en dos tubos que contienen diferentes tipos de anticoagulante, el primero, usado para diferentes determinaciones hematológicas y que cumple la función de preservar los elementos formes de la sangre; el segundo, utilizado para la obtención de plasma cuya función, según King et al. (3) es mantener viable los factores de coagulación para los exámenes de coagulometría.

Actualmente, por el protocolo realizado por el Instituto Nacional de Salud (INS) (4), se utiliza el **Etilen – Diamino Tetra – Acético** (EDTA) como anticoagulante de elección para todas las determinaciones hematológicas tales como recuento de leucocitos, hemoglobina–hematocrito, recuento de hematíes, constantes corpusculares, recuento de plaquetas, recuento diferencial y recuento de reticulocitos, además de la

determinación de los grupos sanguíneos; necesitándose 4 ml de sangre para mantener una relación adecuada con el anticoagulante, ya que, si esta proporción no se mantiene, y existe un exceso de EDTA, Vives et al. (5) afirman que pueden existir modificaciones en la serie blanca y roja, y si por el contrario existe un déficit, se produciría la formación de microcoágulos que afecta a diversas pruebas hematológicas además de conllevar a la obstrucción de los equipos automatizados. Al igual que el EDTA, el citrato de sodio al 3,2% es el anticoagulante que se utiliza por protocolo en los laboratorios para los exámenes de coagulometría como el tiempo de protrombina (TP), tiempo de tromboplastina parcial (TTP) y fibrinógeno (4), que como menciona Rodak (2), se requiere 2,7 ml de sangre para mantener una adecuada relación con el anticoagulante, y a partir de ello obtener plasma citratado como muestra biológica a examinar; resultando un total de 6,7 ml de sangre que se tiene que extraer para la realización de estos dos tipos de análisis.

Con este propósito, diversos investigadores como Narita et al. (6), Yokota et al. (7), Kinoshita et al. (8) entre otros, buscaron opciones de un nuevo anticoagulante, probando diversos compuestos que cumplan con las mismas ventajas que los anticoagulantes protocolizados, donde los resultados fueron los mismos, que existió cambios significativos en los análisis, sobre todo en el recuento plaquetario y la viabilidad de los factores de coagulación, llegando a la conclusión de que sus compuestos como el citrato dextrosa fosfato, el CTAD (citrato, teofilina, adenosina y dipiridamol) y el polímero sintético de poliisoprano sulfonado, no pueden ser integrados como anticoagulante universal.

Sin embargo, a partir del año 2015, en una de las investigaciones realizadas por Rangel et al. (9), se hizo uso del **Tripolifosfato de sodio** (TPF) como anticoagulante común para la determinación de análisis hematológicos y de coagulación en personas sanas, donde no hubo diferencia significativa con los anticoagulantes protocolizados, sin embargo, no se descartó la presencia de interferencias o cambios significativos ante muestras de neonatos, pacientes medicados, transfundidos o con algún tipo de patología.

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.2.1 Interrogante principal

¿El Tripolifosfato de Sodio disminuye la cantidad de sangre extraída en la realización de exámenes hematológicos y de coagulación, manteniendo la integridad de los elementos formes de la sangre y preservando los factores de coagulación lábiles en un Laboratorio Privado de Tacna?

1.2.2 Interrogantes secundarias

- ¿El Tripolifosfato de Sodio disminuye la cantidad de sangre extraída manteniendo la integridad de los elementos formes de la sangre para la realización de los exámenes hematológicos?
- ¿El Tripolifosfato de Sodio disminuye la cantidad de sangre extraída preservando los factores de coagulación lábiles para la realización de los análisis de coagulación?
- ¿Cuál es la hora máxima en que se puede realizar el frotis de lámina periférica después de extraída la sangre con el Tripolifosfato de Sodio sin que exista alteraciones de los elementos formes de la sangre?

1.3 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Los exámenes hematológicos son importantes para el diagnóstico, seguimiento y tratamiento de los pacientes, porque evalúan la cantidad, tamaño, madurez, forma y color de los elementos formes de la sangre, aportando información acerca del estado de salud del paciente y sus patologías, así mismo, determina de manera correcta el tipo de sangre. Por otro lado, los exámenes de coagulometría, evalúan la viabilidad de los factores de coagulación en cada una de sus vías, detectando el nivel en el que se encuentra el problema. Por todos los datos que ambos exámenes aportan, son muy requeridos en los laboratorios, con la dificultad de que cada uno de estos exámenes necesita un tipo diferente de anticoagulante, necesiándose mayor cantidad de sangre.

Por tal motivo, es que el Tripolifosfato de sodio es una nueva alternativa de anticoagulante que va a permitir disminuir la cantidad de sangre total extraída de 6,7 ml a 3 ml, cumpliendo la función de mantener la morfología de los elementos formes de la sangre, permitiendo la extensión de lámina periférica y evitando la aglutinación de plaquetas al igual que el EDTA; también va a cumplir la función del citrato de sodio, el de preservar los factores de coagulación lábiles, evitando la coagulación del plasma antes de su medición y sin producir interferencias ante la presencia de medicamentos recetados.

La disminución de la cantidad de sangre en la toma de muestra, beneficiará notablemente a todas las personas que acudan por análisis de laboratorio, porque no se le extraerá cantidad innecesaria de sangre, punto importante que se debe tener en cuenta sobre todo en los neonatos, lactantes y aquellos pacientes críticos como los oncológicos, a quienes está contraindicada la extracción de gran cantidad de sangre, lo que evita en muchas ocasiones, no realizar todos los exámenes solicitados por el bienestar del paciente. Por otro lado, la utilización de este nuevo compuesto, disminuiría notablemente los gastos de la empresa que lo emplee, debido a que se necesitaría menor cantidad de materiales y reactivos para realización de los exámenes solicitados

Probar la eficacia del Tripolifosfato de sodio es tarea fácil, porque además de ser un compuesto muy económico, la obtención y el procesamiento de las muestras se pueden realizar en cualquier laboratorio donde se realice estos exámenes, y por ser un nuevo compuesto, da a lugar a posteriores investigaciones donde se pueda probar sus propiedades como anticoagulante universal y ser usado en la realización de exámenes especiales.

Este Laboratorio Privado es una entidad que se encuentra frente a Emergencia del Hospital Hipólito Unanue de Tacna, en donde acuden gran cantidad de pacientes de todas las edades y con diversas patologías, lo que nos permitirá estar en contacto con una gran variedad de muestras, permitiendo la comparación directa del Tripolifosfato de sodio con los anticoagulantes protocolizados.

Asimismo, esta nueva metodología motivará a profesionales de la salud y a sus estudiantes, a la exploración de teorías y tecnologías que rompan los paradigmas de los protocolos estandarizados, en busca de nuevos procedimientos y técnicas que tengan como principio la mejora de la calidad de vida de los pacientes.

1.4 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.4.1 Objetivo General

Determinar la efectividad de Tripolifosfato de Sodio como anticoagulante para exámenes hematológicos y de coagulación en un Laboratorio Privado de Tacna.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Demostrar que el Tripolifosfato de sodio mantiene la integridad de los elementos formes de la sangre para la realización de los análisis hematológicos.
- Demostrar que el Tripolifosfato de sodio preserva los factores de coagulación lábiles para la realización de los análisis de coagulación.
- Determinar la hora máxima en que se puede realizar el frotis de lámina periférica después de extraída la sangre sin que exista alteraciones de los elementos formes de la sangre.

1.5 CONCEPTOS BÁSICOS

- **Tripolifosfato de sodio:** Compuesto formado por fosfatos, que reacciona secuestrando a diversos cationes, entre ellos el Calcio (10), como catión importante en la cascada de coagulación, evitando de esta manera, la coagulación sanguínea.

- **Anticoagulante:** Sustancia que se añade a los tubos de toma de muestra sanguínea, que se encuentra en una cantidad y concentración determinada, que tiene como finalidad interferir o inhibir la coagulación sanguínea y la formación de coágulo (11) para diferentes fines de los análisis clínicos.

- **Exámenes hematológicos:** Serie de pruebas que se encargan de analizar los elementos formes de la sangre en busca de alguna alteración (2). Su estudio se basa en detectar anomalías en la producción – destrucción de las células sanguíneas, variaciones en cantidad, tamaño, forma, color, madurez y presencia de inclusiones de la serie leucocitaria, eritrocitaria y plaquetaria, con la finalidad de apoyar al diagnóstico clínico (12).

- **Exámenes de coagulación:** Serie de pruebas que se realizan para detectar alguna anomalía que impida la normal coagulación de la sangre y que produzca constantes hemorragias en los pacientes (2). Estas pruebas evalúan cada una de las vías de la cascada de coagulación, con la finalidad de identificar el factor alterado para su posterior tratamiento (11).

- **EDTA:** Anticoagulante utilizado para los análisis hematológicos de rutina y emergencia, porque no afecta la morfología de las células sanguíneas ni produce interferencias al identificar los grupos sanguíneos (9); actúa como agente quelante del calcio, inhibiendo su participación en la cascada de coagulación, manteniendo la sangre líquida y sin presencia de microcoágulos (3).

- **Citrato de sodio:** Anticoagulante utilizado para los diferentes exámenes de coagulometría, porque secuestra al calcio temporalmente impidiendo la coagulación sanguínea, además preserva la viabilidad de los factores de coagulación hasta su medición (13).

- **Elementos formes de la sangre:** Células sanguíneas que se diferencian unas de otras en tamaño, estructura y función; se agrupan por series: la serie blanca formado por los leucocitos y sus precursores, la serie roja formado por los hematíes y sus precursores y la serie plaquetaria, formado por las plaquetas y sus precursores (2).
- **Viabilidad de factores de coagulación:** Preservación de la estructura y función de las proteínas originarias de la sangre que participan y forman parte de la cascada de coagulación, para la formación del coágulo sanguíneo ante la presencia de sangrado (3).

1.6 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Maczy Gonzales et al. (14), en su trabajo de investigación titulado “Utilidad del Tripolifosfato de sodio en la tipificación de grupos sanguíneos y factor Rh en escolares”, realizado en el 2012; tuvieron como objetivo determinar la utilidad del TPF en la identificación de los diferentes grupos sanguíneos, donde tuvieron como muestra a 100 escolares mayores de 12 años de edad, de ambos sexos, a quienes se le extrajo 2 tubos de sangre venosa, el primer tubo fue con el anticoagulante EDTA, la segunda fue anticoagulada con el TPF. Por medio del método de aglutinación en tubo, se les determinó en ambos tubos, el tipo de sangre que tenía cada escolar, encontrando concordancia del 100% al comparar la sangre anticoagulada con el TPF y la sangre anticoagulada con EDTA, concluyendo que el TPF puede ser recomendado como anticoagulante para la tipificación de grupos sanguíneos ya que quedó comprobado que no produce interferencia para su determinación. Usando como base esta investigación, y haciendo referencia a que ellos concluyen que no existe interferencia, es que también se podría realizar las pruebas de compatibilidad con este anticoagulante, ya que preserva los antígenos eritrocitarios que fundamentan esta prueba.

En un estudio realizado por Lisbeth Rangel Matos et al. (9) sobre la “Evaluación del Tripolifosfato de sodio como anticoagulante en determinaciones hematológicas en

seres humanos” realizado en el año 2015, tuvo como objetivo evaluar la utilidad del Tripolifosfato de sodio como un nuevo anticoagulante, con la finalidad de reducir la cantidad total de sangre extraída de los pacientes. Se extrajo sangre venosa a personas adultas sanas de ambos sexos, que fueron anticoaguladas con el TPF, el EDTA y el citrato de sodio; siendo las dos últimas utilizadas como controles. Al comparar los valores obtenidos del TPF con los otros anticoagulantes, pudieron observar que no hubo diferencia significativa, llegando a la conclusión que es posible la utilización del TPF para la determinación de los parámetros de hematología completa y tiempos de coagulación, permitiendo una sola muestra de sangre con menor volumen sanguíneo. Sin embargo, esta investigación solo se limitó a comprobar la utilidad del TPF en personas adultas sanas, sin tener en cuenta, que a la mayoría de las personas a que se les solicita estos tipos de exámenes, son las que presentan diversas alteraciones, por lo que este estudio abarcará esas muestras patológicas, de pacientes con medicaciones, transfundidos, neonatos, y pacientes oncológicos a quienes es importante disminuir la cantidad de sangre extraída.

En una investigación realizada por Mario Golac et al. (15) en el año 2012, que lleva como título “Variaciones de los parámetros hematológicos, utilizando anticoagulantes EDTA K3 y EDTA K2”, tuvo como fin utilizar los dos tipos de tipos de EDTA que existen en el mercado y comparar sus diferencias. Se obtuvo sangre venosa de 28 personas, tomando 2 muestras por cada una, la primera con EDTA K3 y la segunda con EDTA K2, y procesando ambos tubos en tiempos diferentes, a las 2 y 24 horas. En las dos primeras horas no encontraron diferencia significativa en los parámetros hematológicos analizados, a excepción del recuento de basófilos que se ve alterado en el EDTA K3; a las 24 horas, tampoco evidencian alteraciones significativas de los elementos formes de la sangre, a excepción de la alteración plaquetaria, tanto del recuento como la aglutinación, que se suma a la alteración de los basófilos que presenta el EDTA K3. Con todo lo observado, llegaron a la conclusión de que es preferible el uso del EDTA K2, ya que preserva mejor los elementos formes de la sangre y los conserva en un periodo más prolongado de hasta 24 horas en comparación

con el EDTA K3. Basándonos en las conclusiones que los autores han llegado, es que el EDTA que usaremos en nuestra investigación será en EDTA K2, para poder comparar de manera correcta y con calidad los parámetros hematológicos con el uso del TPF.

Wilson Ruiz Gil (16), en su trabajo de investigación titulado “Diagnóstico y tratamiento de la púrpura trombocitopénica inmunológica”, realizado en el 2015, tuvo como finalidad actualizar los conocimientos acerca de la fisiopatología, el diagnóstico y el tratamiento de la púrpura trombocitopénica que es una patología que tiene mucha frecuencia en los hospitales peruanos, en donde se menciona que hay que tener en cuenta el recuento de plaquetas bajas porque pueden corresponder a una seudotrombocitopenia dependiente de EDTA, porque afirma que existe hasta un 0,1% de la población que puede presentar aglutininas contra los antígenos plaquetarios, que se activan ante la presencia de este anticoagulante produciendo aglutinación plaquetaria, impidiendo la lectura correcta en los equipos automatizados; con lo que se concluye, que realizar una lectura de lámina con sangre directa sin anticoagulante, es una buena práctica que se debe emplear para corroborar los datos obtenidos por el equipo automatizado. Teniendo en cuenta esta investigación, es que el presente proyecto busca evitar la presencia de seudotrombocitopenia, por lo que sus componentes no presentan EDTA ni sus derivados, notándose una gran ventaja en comparación con el EDTA.

En un trabajo de investigación realizado por Fernando Concha Benavente (17) que se titula “Efecto *in vitro* del látex de *Ficus insípida* sobre la cascada de la coagulación sanguínea” realizada en el 2010, tuvo como fin comprobar el efecto anticoagulante *in vitro* de este compuesto determinando la vía de coagulación sobre la que actúa; en donde se resalta que el tiempo de protrombina (TP) y el tiempo de tromboplastina parcial (TPTA), deben ser tomados con citrato de sodio al 3,2%, guardando una relación de 1:9 con la sangre total para la obtención de resultados correctos, concluyendo que la relación del anticoagulante con el plasma es de vital importancia en estas determinaciones, porque evita interferencias en la medición y

mantienes los factores de coagulación lábiles. En la presente investigación y teniendo en cuenta los aportes de este trabajo, se respetará la concentración y la relación sangre-anticoagulante para la toma de muestra, para poder comparar adecuadamente los resultados obtenidos con citrato de sodio y el TPF.

Sandra López Jiménez y Evelyn Vivanco Vélez (18) en su trabajo de investigación titulado “Estudio piloto para establecer la utilidad del Tripolifosfato de sodio (TPF) como anticoagulante de elección en la realización de pruebas hematológicas en un laboratorio de la ciudad de Quito, septiembre a noviembre del 2016”, tuvo como finalidad establecer la utilidad del TPF técnico para los exámenes de hematología y extendido de lámina periférica, donde llegaron a la conclusión que se puede hacer uso del TPF para este tipo de exámenes a excepción del recuento plaquetario, porque produce agregación plaquetaria y una marcada disminución que lo invalida para su evaluación. También hallaron que la lámina periférica en sangre con TPF puede realizarse hasta las 4 horas de extraída la sangre, ya que, pasado ese tiempo, el TPF presenta mayores alteraciones en la serie roja que los obtenidos con los de EDTA. A diferencia de esta investigación, el presente apartado no hará uso del TPF técnico por ser de menor concentración, sino que utilizará el TPF al 99% de pureza.

CAPITULO II

2. FUNDAMENTO TEÓRICO CIENTÍFICAS

2.1 Tripolifosfato de sodio

Para Mayer et al. (19), el Tripolifosfato de sodio (TPF) es un compuesto inorgánico usado principalmente como producto de limpieza; por otro lado, en las industrias alimentarias, este compuesto también es usado como anticoagulante de sangre animal para la obtención de plasma, que luego de su procesamiento es usado para la elaboración y preservación de diversos productos de consumo humano como conservas de embutidos y productos enlatados.

En los laboratorios de análisis clínicos, los anticoagulantes se usan para conservar la sangre humana, evitar su coagulación, e intentar que las células sanguíneas y los compuestos del plasma (entre ellos los factores de coagulación), se encuentren en el estado más parecido al fisiológico, por ello, su función radica en evitar la alteración morfológica de los leucocitos, el tamaño y lisis de los eritrocitos e impedir la agregación o presencia de cúmulos plaquetarios, garantizando la integridad total y conservación de la muestra durante un período determinado, evitando la presencia de interferencias que impidan su medición y la correcta visualización en lámina periférica. (20)

Sin embargo, Ruiz et al. (21) afirman que tanto para la realización de exámenes hematológicos y de coagulación, se necesita dos tipos diferentes de anticoagulantes, debido a que cada uno de estos compuestos presenta diferentes propiedades y mecanismo de acción que no favorece a ambos exámenes al mismo tiempo.

Actualmente, el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI), considera al etilen – diaminotetra – acético (EDTA) como el anticoagulante de elección para los análisis de hematología como el recuento de leucocitos, de hematíes, de plaquetas, de reticulocitos, hemoglobina – hematocrito, constantes corpusculares, lectura de lámina periférica y grupo sanguíneo, ya que presenta ventajas resaltantes en comparación con los demás anticoagulantes que se encuentran en el mercado, entre ellos tenemos: (5)

- Mantiene la morfología fisiológica de los elementos formes de la sangre (serie blanca, roja y plaquetaria), lo que permite la realización del extendido de la lámina dentro de las 4 horas siguientes después de su extracción, con la seguridad de que no exista cambios significativos.
- Conserva la integridad de las células sanguíneas durante las primeras 24 horas de extraída la sangre, siempre que la ésta se mantenga en refrigeración a 4°C sin que se rompa la cadena de frío.
- Evita que los resultados se alteren por efecto de dilución, ya que se suministra en su forma seca.
- Evita la aglutinación o conglomerados de plaquetas, facilitando su recuento en equipos automatizados y pudiéndose comprobar a partir de la extensión de sangre en lámina.

Es así que el EDTA actúa como agente quelante del calcio, lo que impide que se active la cascada de coagulación de manera irreversible y manteniendo la sangre completamente líquida para su estudio, sin la presencia de mallas de fibrina y conglomerados plaquetarios, además evita la alteración morfológica de las células sanguíneas (20); pero la captura permanente del calcio, impide su posterior uso como plasma para los exámenes de coagulometría, debido a que este ión es necesario para el inicio de la cascada de coagulación, y por ende, para medición de sus factores en sus diferentes vías (5).

Para solucionar este problema, es que existe en el mercado otro tipo de anticoagulante usado en los análisis clínicos: el Citrato de Sodio; el cual, según el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (5) solo es usado para análisis de hemostasia como son el Tiempo de Protrombina (TP), Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TPTA) y Fibrinógeno, también para el dosaje de los factores de coagulación en cada una de sus vías.

El mecanismo de acción del citrato de sodio se basa en impedir que el calcio se ionice, siendo una ventaja en comparación con el EDTA, ya que evita de manera temporal la coagulación, manteniendo la sangre totalmente líquida para la posterior obtención del plasma que es la que permite la medición *in vitro* de las diferentes vías de la cascada de coagulación. La principal desventaja es que no se puede emplear este compuesto para los análisis de hematología, debido a que la muestra se diluye por la gran cantidad de anticoagulante líquido empleado, habiendo una notable variación en los resultados, además de que presenta alteración en la morfología de las células sanguíneas. (2)

Carmona et al. (22) afirman que el Tripolifosfato de sodio tiene las propiedades de estos dos anticoagulantes, debido a que su mecanismo de acción se basa en que reacciona con el calcio, evitando que este catión intervenga en la coagulación sanguínea ya que se une a él, lo secuestra temporalmente, evitando que se desencadene la cascada de coagulación y manteniendo la sangre totalmente líquida para su posterior análisis, lo que evita la formación de microcoágulos o conglomerados plaquetarios que es un punto crítico en los análisis hematológicos; además conserva la morfología de los leucocitos, el tamaño de los eritrocitos y permite posteriormente la realización de análisis de coagulometría.

Por otro lado, González et al. (14) comprobaron que el Tripolifosfato de Sodio puede ser usado como anticoagulante de sangre humana, ya que aseguran que este nuevo anticoagulante obtiene valores similares en comparación a los obtenidos con el EDTA en pacientes sanos, porque no produce alteraciones morfológicas de la serie roja, agregación o conglomerados plaquetarios, ni distorsión en ninguno de los tipos de

leucocitos, pudiendo leerse sin mayor problema en equipos automatizados como en lámina periférica. Además, afirma que este nuevo compuesto también puede ser usado para la determinación de los diferentes grupos sanguíneos, porque no genera interferencias durante su estudio, ya que este compuesto preserva la integridad de los antígenos eritrocitarios necesarios para su identificación, pudiendo ser usados para pruebas de compatibilidad.

De la misma manera, Rangel et al. (9) afirman que el Tripolifosfato de sodio puede ser usado como único anticoagulante en determinaciones hematológicas y de coagulación en personas aparentemente sanas y sin medicación, ya que cumple la función del EDTA y citrato de sodio al mismo tiempo, debido a que mantiene la sangre líquida sin presencia de fibrina, preserva la morfología de todas las células sanguíneas, evita la formación de agregados plaquetarios, y mantiene los factores de coagulación lábiles.

Basándonos en el mecanismo de acción que afirma Carmona, y los estudios realizados por los autores antes mencionados, este compuesto puede ser usado como anticoagulante para los exámenes hematológicos, donde se necesita sangre total anticoagulada, y para los análisis de hemostasia, donde se necesita plasma; ya que es capaz de evitar temporalmente la cascada de coagulación para su posterior medición *in vitro*, manteniendo y conservando la sangre totalmente líquida, preservando la integridad de las células sanguíneas y sus factores de coagulación, sin evidencia de mallas de fibrina.

La Universidad Nacional de Tucumán (23) menciona un punto crítico en los análisis hematológicos, el estudio de plaquetas, debido a que requiere de muchos cuidados ya que pueden activarse, adherirse y formar conglomerados plaquetarios. Actualmente, el recuento plaquetario se realiza en contadores automatizados, y a pesar de ello es necesario inspeccionar el frotis de sangre periférica para corroborar el valor obtenido por el equipo, ya que según lo investigado por Bosque et al. (24), existe un fenómeno que el EDTA produce, denominado seudotrombocitopenia dependiente de EDTA, que se presenta solo en algunos pacientes y es causado por la presencia de

inmunoglobulinas G (Ig G) que se encuentra en la superficie de las plaquetas, que son anticuerpos que captan al EDTA produciendo su aglutinación. Ohashi et al. (25) asegura que la presencia de estas inmunoglobulinas en sangre, provoca la disminución en el recuento de plaquetas y aumento en su tamaño, debido a que este anticoagulante provoca en algunas personas conglomerados, obteniendo resultado erróneos en los equipos automatizados.

Con el uso del Tripolifosfato de sodio, Rangel et al. (9) aseguran que este fenómeno no se provocaría, debido a que los anticuerpos IgG presentes en las plaquetas solo se activan en presencia del EDTA, y siendo el Tripolifosfato de sodio un anticoagulante que no presenta ningún compuesto a base de EDTA ni sus derivados, no provocaría conglomerados plaquetarios, facilitando su recuento automatizado y manual en lámina.

2.2 Cantidad y concentración

Para Rodak et al. (2), las sales de EDTA actúan ejerciendo su efecto quelante sobre el calcio, fijándolo fuertemente y evitando que se inicie la cascada de coagulación, de esta manera la sangre se mantiene líquida, sin formación de microcoágulos, ni presencia de mallas de fibrina.

Asimismo, Vives et al. (5) afirman que la concentración de EDTA recomendada para los análisis hematológicos es de 1,5 a 2,2 mg por cada mililitro de sangre, ya que si esta proporción no se mantiene, y existe un exceso, afecta tanto a los hematíes como a los leucocitos, produciendo su encogimiento y la aparición de cambios degenerativos, además puede existir modificaciones en los elementos formes de la sangre, tales como retracción celular con disminución del valor de hematocrito por centrifugación y un aumento de la concentración corpuscular media de hemoglobina; las plaquetas también se ven afectadas porque se edematizan y se desintegran, lo que da lugar a un falso aumento plaquetario por la presencia de sus fragmentos. Por otro lado, si existe un déficit de este anticoagulante, se produce la formación de microcoágulos que afectan

diversas pruebas, sobre todo por la presencia de pseudoplaquetopenia que causa la obstrucción de los equipos automatizados (26), es por ello que existen en el mercado los tubos con sistemas al vacío, que extrae la cantidad exacta de sangre para mantener la correcta relación sangre / anticoagulante y evitar excesos o deficiencias.

Existen diversas controversias sobre el uso de sales de EDTA dipotásicas (K2) o tripotásicas (K3), ya que este anticoagulante se encuentra en el mercado en ambas presentaciones para los análisis hematológicos. Diversas investigaciones como la de Mario Golac (15) y Fernando Ventimiglia (27) afirman que es mejor el uso de las sales dipotásicas (K2), ya que presenta menor cantidad de interferencias durante el análisis. Dentro de sus investigaciones comprobaron que el EDTA K2 es superior al EDTA K3 porque conserva las granulaciones y la morfología de los basófilos al pasar algunas horas, y que evita durante las primeras horas de la obtención de la muestra, que las plaquetas se aglutinen y se desintegren.

Asimismo, el Instituto Nacional de Salud (4), considera que el citrato de sodio es el anticoagulante requerido para estudios de coagulación porque preserva los factores de coagulación lábiles, encontrándose en el mercado en dos tipos de concentraciones diferentes: 3,2% y 3,8%. Sin embargo, el NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) recomienda que la concentración a utilizarse sea de 3,8% (105 y 129 mM) y la OMS (Organización Mundial de la Salud) de 3,2% (109 mM), habiendo contrariedad en cuál de las dos concentraciones se debe usar.

Para Duboscq et al. (28), en su trabajo de investigación demostraron que el uso del citrato de sodio a una concentración de 3,8% causaba variación hasta del 10% en el valor del ISI (Índice Internacional de Sensibilidad), lo que se encuentra relacionado con el tiempo de protrombina; además el tiempo de coagulación era significativamente más largo sobre todo en pacientes con tratamiento de anticoagulantes. Así llegaron a la conclusión de que si existía mayor concentración de citrato de sodio, habría menor concentración de calcio disponible para promover la formación del coágulo, y por lo tanto, los análisis daban resultados con tiempos de coagulación más largos, aun más cuando el paciente se encontraba en tratamiento con anticoagulantes, porque estos

compuestos en presencia de mayor concentración de citrato de sodio, provoca interferencias durante su medición, resultando en tiempos de coagulación más prolongados de lo que realmente presenta el paciente, sugiriendo así el uso de citrato de sodio al 3,2%

La relación de sangre / citrato de sodio líquido es crítica y debería permanecer de 9:1. Por tal motivo, estos tubos deben estar completamente llenos para garantizar resultados precisos, sugiriendo el uso de tubos con sistema al vacío que extrae la cantidad de sangre necesaria para mantener esta relación. Cuando no se respeta esta proporción, y se extrae menor cantidad de sangre, el tiempo de tromboplastina (PTT) y el tiempo de protrombina (TP) aumentan su valor considerablemente, especialmente si la relación aumenta de 7:1 o más. (1).

Julio et al. (29), firman que la efectividad del Tripolifosfato de sodio y su capacidad de actuar como anticoagulante y preservante de sangre animal depende mucho de su concentración, debido a que difiere según las especies. Referente a esto, existen diversos autores que han trabajado en ello, llegando a conclusión de que el Tripolifosfato de sodio a una concentración de 0,2% es necesario para ser usado como anticoagulante de sangre de cerdo y bovino, y un 0,1% es utilizados para aves; teniendo la capacidad de mantener la sangre líquida, estable, sin presencia de alteraciones, aun después de su almacenamiento. (30)

De la misma manera, para que el Tripolifosfato de Sodio sea utilizado como anticoagulante de sangre humana, debe tener una concentración adecuada que permita preservar todos los elementos formes de la sangre y mantenga los factores de coagulación lábiles para su posterior medición y análisis; es así que en algunos estudios experimentales como los realizados por Rangel et al. (31), afirman que el Tripolifosfato a una concentración alrededor del 5% es el indicado para preservar la sangre humana, no evidenciando diferencias morfológicas observables y manteniendo la sangre totalmente líquida sin presencia de coágulos.

El nivel de pureza del Tripolifosfato de sodio como la relación que debe mantener con la sangre, son puntos críticos a tener en cuenta al momento de hacer uso de este compuesto (29); algunos autores han trabajado con el Tripolifosfato sodio técnico, que presenta 94% de pureza, hallando alteraciones a nivel plaquetario como es su agregación y una marcada disminución en el recuento, que lo invalida para su evaluación (18); para otros autores, como Rangel et al. (31), la relación de la sangre con el anticoagulante de mantenerse alrededor de 30:1, para mantener las propiedades necesarias que conserven a las células sanguíneas y los factores de coagulación. A pesar de ello, aún no está claro la pureza, concentración y relación con la que el Tripolifosfato de sodio debe usarse para que garantice resultados similares a los obtenidos con los anticoagulantes protocolizados.

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1 HIPÓTESIS

3.1.1 Hipótesis general

El Tripolifosfato de sodio es un efectivo anticoagulante que mantiene los elementos formes de la sangre y preserva los factores de coagulación lábiles en los exámenes hematológicos y de coagulación, reduciendo la cantidad de sangre extraída.

3.1.2 Hipótesis específicas

- El Tripolifosfato de Sodio mantiene la integridad de los elementos formes de la sangre por cuatro horas a temperatura ambiente desde la toma de muestra hasta la realización de los análisis hematológicos.
- El Tripolifosfato de Sodio preserva los factores de la vía intrínseca, extrínseca y común de la cascada de coagulación lábiles para la realización de los análisis de coagulometría.
- Se puede realizar el frotis de sangre periférica sin que exista alteraciones de los elementos formes de la sangre dentro de las 4 primeras horas de recolectada la sangre.

3.2 VARIABLES

3.2.1 Variable Dependiente

3.2.1.1 Denominación de la variable

La Efectividad de Tripolifosfato de Sodio es la variable dependiente por ser la que modificará su mecanismo de acción en función a la concentración y cantidad a la que se prepare para ser usado como anticoagulante de sangre humana.

3.2.1.2 Indicadores

Los indicadores se encuentran agrupados en sub dimensiones para la mejor evaluación de los parámetros:

Conservación de la cantidad:

- **Recuento de Leucocitos (WBC):** Evalúa la conservación de la cantidad total de leucocitos presentes por ml de sangre a evaluar.
- **Recuento de Hematíes (RBC):** Evalúa la conservación de la cantidad total de hematíes presentes por ml de sangre a evaluar.
- **Recuento de plaquetas (PLT):** Evalúa la conservación de la cantidad total de plaquetas presentes por ml de sangre a evaluar.
- **Cantidad de neutrófilos:** Evalúa la conservación y la cantidad total de neutrófilos presentes por ml de sangre a evaluar.
- **Cantidad de linfocitos:** Evalúa la conservación y la cantidad total de linfocitos presentes por ml de sangre a evaluar.
- **Cantidad de monocitos:** Evalúa la conservación y la cantidad total de monocitos presentes por ml de sangre a evaluar.
- **Cantidad de eosinófilos:** Evalúa la conservación y la cantidad total de eosinófilos presentes por ml de sangre a evaluar.
- **Cantidad de basófilos:** Evalúa la conservación y la cantidad total de basófilos presentes por ml de sangre a evaluar.

Conservación del tamaño

- **Hematocrito (HTO):** Evalúa la conservación del tamaño de los hematíes en relación al total de la sangre.
- **Volumen Corpuscular Medio (VCM):** Evalúa la conservación del tamaño individual de los hematíes.
- **Volumen Plaquetario Medio (VPM):** Evalúa la conservación del tamaño individual de las plaquetas.

Conservación de la coloración

- **Hemoglobina (HB):** Evalúa la conservación del color de los hematíes en relación al total de la sangre.
- **Hemoglobina Corpuscular Media (HCM):** Evalúa la conservación del color de los hematíes en relación a cada hematíe.
- **Concentración de la Hemoglobina Corpuscular Media (MCHC):** Evalúa la conservación en el color de los hematíes en relación a cada 100 hematíes.

Conservación de la madurez

- **Identificación Mieloblastos:** Evalúa la conservación de las características propias de los Mieloblastos que lo distinguen de las demás fases de maduración.
- **Identificación Promielocitos:** Evalúa la conservación de las características propias de los Promielocitos que lo distinguen de las demás fases de maduración.
- **Identificación de Mielocitos:** Evalúa la conservación de las características propias de los Mielocitos que lo distinguen de las demás fases de maduración.
- **Identificación Metamielocitos:** Evalúa la conservación de las características propias de los Metamielocitos que lo distinguen de las demás fases de maduración.
- **Identificación bandas:** Evalúa la conservación de las características propias de las bandas que lo distinguen de las demás fases de maduración.
- **Identificación Eritroblastos:** Evalúa la conservación de las características propias de los Eritroblastos que lo distinguen de las demás fases de maduración.

- **Identificación Eritroblasto Basófilo:** Evalúa la conservación de las características propias de los Eritroblastos basófilos que lo distinguen de las demás fases de maduración.
- **Identificación Eritroblasto Policromatófilo:** Evalúa la conservación de las características propias de los Eritroblastos policromatófilos que lo distinguen de las demás fases de maduración.
- **Identificación Eritroblasto Ortocromático:** Evalúa la conservación de las características propias de los Eritroblastos ortocromáticos que lo distinguen de las demás fases de maduración.
- **Identificación reticulocitos:** Evalúa la conservación de las características propias de los reticulocitos que lo distinguen de las demás fases de maduración.

Conservación de la distribución

- **Amplitud de Distribución Eritrocitaria (RDW):** Evalúa la conservación de distribución de los hematíes tomando como base su tamaño.
- **Amplitud de Distribución Plaquetaria (PDW):** Evalúa la conservación de distribución de las plaquetas tomando como base su tamaño.

Conservación de los antígenos eritrocitarios

- **Intensidad de aglutinación:** Evalúa la conservación de los antígenos de grupo sanguíneo y Rh en los hematíes, lo que permite la unión normal de Ag-Ac en presencia de sus respectivos antisueros.

Preservación de los factores de coagulación lábiles

- **Tiempo de formación de coágulo:** Evalúa la preservación de los factores de coagulación lábiles durante toda la cascada de coagulación.

3.2.1.3 Escala de medición

Cada uno de los indicadores de la presente variable se medirá en escala de intervalo.

3.2.2 Variable Independiente

3.2.2.1 Denominación de la variable

El presente proyecto presenta dos variables independientes: concentración y cantidad del Tripolifosfato de sodio.

Ambas variables serán manipuladas por el investigador hasta encontrar la concentración y la cantidad adecuada que permita el desarrollo apropiado de la investigación.

3.2.2.2 Indicadores

- Concentración de Tripolifosfato de sodio: basado en la cantidad en gramos de Tripolifosfato de sodio con 99% de pureza que se debe añadir a 1 000 ml de agua destilada para obtener una concentración determinada que permita que la sangre se mantenga líquida y sin presencia de microcoágulos ni mallas de fibrina.
- Cantidad de Tripolifosfato de sodio: se basa en la relación de sangre / anticoagulante que se debe mantener para que el mecanismo de acción del anticoagulante pueda ser efectivo.

3.2.2.3 Escala de medición

Ambas variables se medirán en escala de intervalo.

3.3 TIPO DE INVESTIGACIÓN

El tipo de investigación que se realizó es experimental, porque toma como base conceptos químicos sobre el Tripolifosfato de sodio y su uso como anticoagulante en sangre humana, proponiéndolo como una nueva alternativa de anticoagulante universal para análisis clínicos en humanos que será usado en diagnóstico y seguimiento de diversas patologías.

La investigación es del tipo longitudinal, analítico y explicativo porque los datos se recogieron en tres horas diferentes: menor a 1 hora, a las 4 horas y a las 6 horas de extraída la sangre, intentando explicar los beneficios y ventajas que presenta el Tripolifosfato de sodio que lo proponen como anticoagulante universal de los análisis clínicos.

3.4 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

La investigación que se realizó es de diseño experimental puro, porque se manipuló la variable en estudio, que es la efectividad del Tripolifosfato de sodio; para observar si su mecanismo de acción es el adecuado para mantener la integridad de los elementos formes de la sangre y preservar los factores de coagulación lábiles en la sangre humana, sin que exista interferencias en muestras patológicas o ante la presencia de medicamentos.

Todos estos requisitos propios de un “anticoagulante universal”, se comprobaron mediante los resultados obtenidos en cada uno de los parámetros evaluados en los diversos análisis clínicos, como son la conservación de la cantidad, tamaño, color, maduración y distribución de la serie roja, blanca y plaquetaria en los exámenes hematológicos; la conservación de los antígenos eritrocitarios a través de la realización del grupo sanguíneo, y la preservación de los factores de coagulación lábiles en la vía intrínseca, extrínseca y común a través de la realización de los exámenes de coagulometría.

Los resultados obtenidos con el Tripolifosfato de sodio (del grupo experimental) fueron comparados con los resultados de un grupo control que estuvo conformado por muestras de sangre mezcladas con los anticoagulantes protocolizados (EDTA y citrato de sodio). La similitud en los resultados entre ambos grupos, valida al Tripolifosfato de sodio como anticoagulante universal.

3.5 ÁMBITO DE ESTUDIO

La presente investigación se realizó a un total de 103 personas que aceptaron ser parte de la investigación desde el mes de Julio al mes de Diciembre del año 2017 en un Laboratorio Privado que se encuentra ubicado en el cercado de la ciudad de Tacna, frente al Servicio de Emergencia del Hospital Hipólito Unanue de la misma ciudad. Cuenta con diversas áreas especializadas: Hematología, Coagulación, Bioquímica, Inmunología, Microbiología, Citología, Patología y Biología molecular que pone al servicio de la población.

Este Laboratorio Privado, atiende a un promedio de 20 a 30 personas diarias de todas las edades, que acuden por diferentes análisis tanto de rutina como de emergencia, la mayoría provenientes del Hospital Hipólito Unanue, que acuden en busca de resultados rápidos y confiables, sobre todo de aquellos exámenes que el hospital no realiza, por lo que ha sido nombrado laboratorio de contingencia de dicho hospital.

Todas sus áreas cuentan con equipos automatizados los que son sometidos diariamente a controles internos para garantizar la calidad de los resultados, y mensualmente a controles externos enviados por Suiza Lab, que es el laboratorio de referencia con el que trabaja de la mano, para evitar errores sistemáticos que no se captan con los controles internos.

3.6 POBLACIÓN Y MUESTRA

3.6.1 Unidad de Estudio

Muestra sanguínea de persona con o sin alteraciones hematológicas o de coagulación que haya acudido al Laboratorio Privado durante el segundo semestre del 2017.

3.6.2 Población

Se trabajó con el total de la población que consta de 103 muestras sanguíneas de personas con y sin alteraciones hematológicas y de coagulación que acudieron al Laboratorio Privado durante el segundo semestre del 2017 según los criterios de inclusión y exclusión, por lo que la presente investigación no requirió de muestra.

Criterio de Inclusión

Muestras de sangre venosa humana

Criterio de exclusión:

- Muestras de personas que no aceptaron ser parte del estudio.
- Muestras hemolizadas
- Muestras coaguladas

3.7 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS

3.7.1 Técnicas

La observación directa de parte del investigador como de los tecnólogos especialistas en el área, fue la técnica que se empleó para recolectar la mayor cantidad de datos obtenidos tanto del grupo experimental (muestras con Tripolifosfato de sodio) como el grupo control (muestras con anticoagulantes protocolizados) para su posterior análisis.

Se realizó de manera estructurada, porque ya se precisaba de los parámetros y características que se evaluarían en cada caso, delimitándolo a alcanzar el objetivo de la investigación.

3.7.2 Instrumentos

Se utilizó diferentes análisis clínicos para evaluar todos los parámetros establecidos en esta investigación. Entre los análisis que se utilizó tenemos al hemograma

automatizado de 5 extirpes, el estudio de lámina periférica, la determinación de grupo sanguíneo en tubo, el tiempo de protrombina (TP), tiempo de tromboplastina parcial activada (TPTA) y fibrinógeno, todos los exámenes se realizaron según los procedimientos protocolizados por el Instituto Nacional de Salud [4].

El hemograma evaluó diferentes parámetros que se registraron en cantidades o porcentajes:

- Recuento de leucocitos
- Recuento de hematíes
- Recuento de plaquetas
- Recuento de reticulocitos
- Constantes corpusculares
- Ancho de distribución
- Hemoglobina – hematocrito
- Lámina periférica

El estudio de lámina periférica fue evaluado por dos Tecnólogos Médicos expertos y especialistas en el área de hematología del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN), los cuales evaluaron la presencia de alteraciones o cambios morfológicos de las células sanguíneas al pasar de las horas.

La determinación de grupo sanguíneo evaluó la presencia o ausencia de aglutinación en presencia de diferentes antisueros, clasificando las muestras sanguíneas según su tipo y factor:

- Grupo A
- Grupo B
- Grupo AB
- Grupo O
- Factor Rh positivo
- Factor Rh negativo

El TP, TPTA y fibrinógeno midieron el tiempo que tarda en coagular el plasma ante la presencia de un reactivo en particular según el examen a realizar; el TP y el TPTA fueron medidos en segundos, el fibrinógeno fue medido en mg/dl.

Todos estos análisis fueron evaluados tanto en el grupo experimental como en el grupo control, donde cada parámetro estudiado quedó registrado para su posterior análisis.

CAPÍTULO IV

4. LOS RESULTADOS

4.1 DESCRIPCIÓN DEL TRABAJO DE CAMPO

En el segundo semestre del 2017 se llevó a cabo el experimento en un laboratorio privado de la ciudad de Tacna, tomando muestras a 103 personas de distinta edad.

El objetivo práctico ha sido poder probar que el TPF es un efectivo anticoagulante que mantiene los elementos formes de la sangre y preserva los factores de coagulación lábiles en los exámenes hematológicos y de coagulación, haciendo uso del hemograma y grupo sanguíneo como análisis hematológicos; y el TP, TPTA y fibrinógeno como análisis de coagulometría.

Para obtener la concentración de Tripolifosfato de sodio y la relación que debe tener con la sangre, se tuvo que realizar exámenes piloto donde se extrajeron muestras sanguíneas a 10 personas que voluntariamente aceptaron participar de este experimento y a quienes se les tuvo que realizar diversas mediciones hematológicas y de coagulación (basados en trabajos anteriores) a concentraciones diferentes: 4%, 5% y 6% y usando diferentes cantidades: 50 ul, 100 ul, 150 ul para 3 ml de sangre y estos resultados fueron comparados con los anticoagulantes protocolizados, obteniendo mejores resultados usando TPF al 5% a una cantidad de 100 ul por cada 3 ml de sangre (relación 1:30).

Para la preparación de este nuevo anticoagulante, se pesó 5 gramos de TPF al 99% de pureza (Figura 1) y se diluyó con 100 ml de agua destilada; se añadió 100 μ l de esta preparación a tubos de vidrio y se los mantuvo a temperatura ambiente hasta su uso.

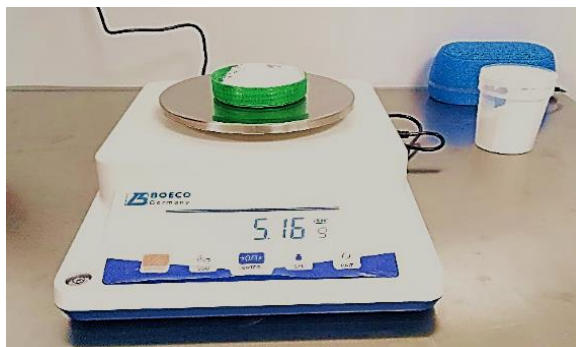


Figura 1. Tripolifosfato de sodio al 99% de pureza.

A cada participante asistente al laboratorio clínico se le hizo firmar un consentimiento (Anexo 1) para formar parte de la investigación, donde se le explica el objetivo y procedimiento que se le va a realizar; en caso de los menores de edad, los padres fueron responsables en firmar el consentimiento. A las personas que aceptaron el procedimiento, se les realizó 2 extracciones sanguíneas, el primero usando 2 tubos al vacío (EDTA K2 y citrato de sodio al 3,2%) de la marca VACUETTE, donde se extrajeron un total 6,7 ml de sangre; y el segundo con aguja libre, empleando el tubo que contiene Tripolifosfato de sodio al 5% donde se extrajeron 3 ml de sangre (Figura 2), se homogenizaron las muestras y se inició con los procedimientos respectivos.



Figura 2. Tubos con citrato de sodio al 3,2%, con EDTA K2 y con TPF al 5% respectivamente

Al tubo que contiene EDTA K2 (anticoagulante protocolizado), se le realizó el análisis de Hemograma con su respectivo extendido de lámina en tres horas diferentes: antes de la primera hora, a las 4 y a las 6 horas de extraída la sangre. El hemograma fue realizado en el equipo hematológico automatizado Mindray BC-5 380 de cinco extirpes (Figura 3), donde se evaluaron la cantidad, tamaño, coloración, madurez y distribución de los elementos formes de la sangre. Las láminas periféricas de las 3 horas diferentes fueron coloreadas con Wright y evaluados por dos Tecnólogos Médicos expertos en hematología que observaron los cambios morfológicos existentes en la sangre al pasar de las horas.



Figura 3. Equipo hematológico automatizado Mindray BC-5 380 de cinco extirpes

Para la tipificación del grupo sanguíneo, también se utilizó el tubo con EDTA K2, donde se obtuvo una pequeña cantidad de sangre anticoagulada para lavar los hematíes y llevarlos al 5% de concentración con suero fisiológico. En tres tubos diferentes se colocó una gota de hematíes al 5% y se añadió una gota de anti -A al primer tubo, una gota de anti - B al segundo tubo y una gota de anti - D al tercer tubo, todos de la marca DIALAB (Figura 4); se centrifugó a 100 rpm por 1 min. observándose la presencia de aglutinación según el grupo sanguíneo y factor Rh de cada persona al igual que su nivel de intensidad.



Figura 4. Antisueros anti -A, anti -B y anti -D respectivamente

En el caso del tubo que contiene citrato de sodio al 3,2% se centrifugó a 3 500 rpm por 10 min. para separar el plasma del paquete globular. Una vez obtenido el plasma se procedió a realizar los procedimientos de coagulometría en el equipo semi automatizado MD PACIFIC TS 6 000 (Figura 5) donde se midió el tiempo de coagulación correspondiente al TP (tiempo de protrombina), TPTA (tiempo de tromboplastina parcial activada) y fibrinógeno.



Figura 5. Equipo de coagulometría semiautomatizado MD PACIFIC 6 000

Al tubo con TPF se le realizó el análisis de Hemograma en el equipo automatizado Mindray BC-5 380 con sus respectivo extendido de lámina en tres horas diferentes: antes de la primera hora, a las 4 y a las 6 horas de extraída la sangre y

coloreadas con Wright para compararlas con los resultados obtenidos con el EDTA, las láminas también fueron leídas por los Tecnólogos Médicos expertos en hematología, quienes observaron y registraron los cambios morfológicos hallados al pasar las horas. Por otro lado, también se tomó una pequeña muestra de sangre para obtener glóbulos rojos al 5% y realizar la determinación del grupo sanguíneo y factor Rh, donde los resultados y la intensidad fueron comparados con los del EDTA.

Después de realizar los análisis hematológicos, se dividió una parte de la muestra para centrifugarla a 3 500 rpm por 10 minutos para separar el plasma del paquete globular, una vez obtenido el plasma, se realizó los análisis de TP, TPTA y fibrinógeno en el equipo semiautomatizado MD PACIFIC TS 6 000, para luego comparar sus resultados con los obtenidos del citrato de sodio.

La similitud entre los resultados del TPF y de los anticoagulantes protocolizados, muestran su acción anticoagulante y capacidad de preservar los factores de coagulación lábiles y mantener la integridad de los elementos formes de la sangre, pudiendo utilizarse como anticoagulante para este tipo de análisis clínicos, con la ventaja de reducir la cantidad de sangre extraída.

4.2 PRUEBA ESTADÍSTICA

Al encontrarse los valores de los indicadores con mediciones extremas, es que la aplicación de la prueba estadística para variables numéricas continuas no aplicaría, porque los rangos normales tienen valores extremos.

Para realizar un adecuado contraste en la siguiente investigación, se tuvo que convertir las variables cuantitativas a cualitativas, para que se pueda medir el nivel de concordancia entre el grupo experimental y el grupo control para cada indicador, es por ello que se realizó la prueba estadística del Coeficiente Kappa de Cohen.

El Coeficiente Kappa de Cohen es una prueba estadística que mide el grado de acuerdo o concordancia entre dos mediciones, las cuales pueden corresponder a dos evaluadores midiendo un mismo elemento, o dos instrumentos de medición usados por la misma persona.

En este caso, el investigador evaluó mediante diversos análisis, dos tipos de anticoagulantes diferentes a un grupo de personas, buscando replicar los resultados de los anticoagulantes protocolizados (grupo control) mediante el uso del Tripolifosfato de sodio (grupo experimental), ya que este nuevo compuesto reduciría la cantidad de sangre extraída a todo tipo de pacientes y por ser un compuesto económico, reducirían los costos. El nivel de significancia que se utilizó es del 5% ($p < 0.05$)

Para saber el nivel de concordancia según el Coeficiente Kappa de Cohen, existe una tabla de evaluación (Tabla 10), donde se clasifica el grado de similitud obtenida entre un compuesto y otro, siendo la máxima concordancia posible $k = 1$.

Tabla 1

Interpretación del índice Kappa

Índice Kappa	Interpretación
0.00-0.20	Ínfima concordancia
0.20-0.40	Escasa concordancia
0.40-0.60	Moderada concordancia
0.60-0.80	Buena concordancia
0.80-1.00	Muy buena concordancia

Nota: Recuperado de “Large sample standard errors of kappa and weighted kappa”, de Fleiss J, Cohen J, Everitt B, 1969, *Psychol Bull* 72(1):323-327.

4.3 DISEÑO DE LA PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS

En el siguiente apartado los resultados se presentan en tablas donde se muestra la similitud entre ambos anticoagulantes (Tripolifosfato de sodio y anticoagulantes protocolizados) a través del índice del coeficiente Kappa; cada tabla muestra la evaluación de cada subdimensión que se encuentra en la operacionalización de las variables (Anexo 2) que en conjunto evalúa las dos dimensiones de la presente e investigación: el mantenimiento de la integridad de los elementos formes de la sangre y la preservación de factores de coagulación lábiles.

La primera tabla hace una descripción general de la población que participó de la investigación donde se los agrupa por edad y sexo; de la segunda a la octava tabla se muestra el grado de similitud entre los dos anticoagulantes a través de la comparación de los parámetros que evalúan los objetivos de nuestra investigación, donde no solo se analiza a nivel estadístico, sino también desde el punto de vista clínico, siendo:

- de la segunda a la séptima tabla, los parámetros que evalúan la integridad de los elementos formes de la sangre.

- la octava tabla muestra los parámetros que evalúan la preservación de los factores de coagulación lábiles.

La novena tabla muestra los cambios morfológicos que ocurren en ambos anticoagulantes según el pasar de las horas (menor a una hora, a las 4 y 6 horas) mostrando a través de fotografías estos hallazgos que describen y muestran las diferencias entre ambos anticoagulantes.

4.4 PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS

Tabla 2

Tacna: Pacientes tamizados según diversas variables, 2017

Sexo	n	%
Hombre	47	45,6
Mujer	56	54,4
Edad	n	%
Niños (< menor a 11 años)	16	15,5
Adolescente (12 a 17 años)	8	7,8
Jóvenes (18 a 29 años)	18	17,5
Adulto (30 a 59 años)	43	41,7
Adulto mayor (mayor a 60 años)	18	17,5
Total	103	100,0

Fuente: Instrumento de comparación entre el TPF y anticoagulantes protocolizados, 2017

Elaboración: Propia

En la tabla 2, se describen las personas con y sin alteraciones hematológicas y de coagulación que hayan acudido al Laboratorio Privado durante el segundo semestre del 2017; el número de muestras consideradas ha sido 103. De la muestra el 54,4% han sido mujeres mientras que el 45,6% varones. En cuanto a edades, se ha podido tomar muestras a personas desde su nacimiento hasta los 82 años de edad considerando las etapas de vida según el MINSA; encontrando una concentración de 41,7% de adultos de 30 a 59 años de edad; un 17,5% tanto de jóvenes como de adultos mayores a 60 años de edad; un 15,5% de niños menores a 11 años de edad y un 7,8% de adolescentes entre 11 a 17 años de edad.

Tabla 3*Tacna: Evaluación de la conservación de la cantidad en pacientes analizados, 2017*

Conservación de la cantidad	Valor kappa	Error típ. Asint.	T aproximada	Sig. Aproximada
Recuento de leucocitos	1.000	0.000	12.682	.000
Recuento de hematíes	.982	.018	12.285	.000
Recuento de plaquetas	.896	.045	12.150	.000
Cantidad de neutrófilos	.856	.046	11.618	.000
Cantidad de linfocitos	.984	.016	13.473	.000
Cantidad de monocitos	.815	.090	4.147	.000
Cantidad de eosinófilos	.871	.063	8.839	.000
Cantidad de basófilos	1.000	0.000	10.149	.000

Fuente: Instrumento de comparación entre el TPF y anticoagulantes protocolizados, 2017

Elaboración: Propia

En la tabla 3 se observa la similitud en la conservación de la cantidad entre el TPF y el EDTA, observándose que el uso del TPF (anticoagulante en estudio) arroja resultados estadísticamente iguales (valor de significancia menor al 5%) que haciendo uso del EDTA (anticoagulante protocolizado) ya que desde el punto de vista estadístico, el coeficiente Kappa de Cohen presenta una muy buena concordancia (mayor al 0.80) en cada uno de sus parámetros, lo que indican que este nuevo anticoagulante permite la conservación de la cantidad en los tres principales elementos formes de la sangre, es decir, en la serie roja, blanca y plaquetaria, además de la diferenciación de la serie blanca. Sin embargo, en el caso de las plaquetas, a pesar de que se observa resultados estadísticamente iguales, los resultados obtenidos por cada uno de los pacientes muestra que existe una ligera disminución en su recuento (Anexo 3), el cual, en muy pocos casos, podría tener relevancia clínica.

Tabla 4*Tacna: Evaluación de la conservación del tamaño, 2017*

Conservación del tamaño	Valor kappa	Error típ. asint.	T aproximada	Sig. Aproximada
Hematocrito	.941	.033	10.563	.000
Volumen corpuscular medio	.976	.024	12.408	.000
Volumen plaquetario medio	.648	.163	7.057	.000

Fuente: Instrumento de comparación entre el TPF y anticoagulantes protocolizados, 2017

Elaboración: Propia

En la tabla 4 se muestra la concordancia en cuanto a la conservación del tamaño entre el TPF y el EDTA, donde se encuentran los parámetros hematológicos tanto en la serie roja (hematocrito y Volumen Corpuscular Medio) como la plaquetaria (Volumen Plaquetario Medio); donde se observa que el uso del TPF muestra resultados estadísticamente iguales que los obtenidos con el EDTA en la serie roja, ya que presenta una muy buena concordancia (mayor al 0.80) según el coeficiente Kappa, lo que indica que preserva el tamaño y morfología de los hematíes, sin causar daño a la membrana, evitando su destrucción (lisis) o crenación. Por otro lado, a pesar de que se demuestra estadísticamente que el tamaño de las plaquetas se conserva (valor de significancia menor al 5%), existe una pequeña variación en los resultados, apreciándose en la buena concordancia que muestra el coeficiente Kappa (de 0.60 – 0.80), ya que se observa que existe un leve incremento en el tamaño plaquetario cuando se utiliza el TPF (Anexo 4), lo que es indicativo de que este anticoagulante provoca una ligera adhesión entre las plaquetas, leyéndose en los equipos automatizados como un aumento en su tamaño y disminución en la cantidad.

Tabla 5*Tacna: Evaluación de la conservación de la coloración, 2017*

Conservación de la coloración	Valor kappa	Error típ. Asint.	T aproximada	Sig. Aproximada
Hemoglobina	.949	.029	13.006	.000
Hemoglobina corpuscular media	.957	.030	11.834	.000
Concentración media de la hemoglobina corpuscular	.937	.044	10.640	.000

Fuente: Instrumento de comparación entre el TPF y anticoagulantes protocolizados, 2017

Elaboración: Propia

En la tabla 5 apreciamos la similitud en la conservación de la coloración entre los resultados obtenidos con el TPF y el EDTA relacionado a la preservación de la hemoglobina y su relación con el tamaño del hematíe; observándose que entre estos dos anticoagulantes no existe diferencias estadísticamente significativas (Anexo 5), además de observarse una buena concordancia (mayor al 0.80) según el coeficiente Kappa; por lo tanto, queda demostrado que el TPF puede reemplazar al EDTA en estos parámetros, pudiendo utilizarse indistintamente en pacientes de diferentes edades, sexo, o patologías, pudiendo dosar la hemoglobina tanto a personas con bajas concentraciones (anemias agudas o crónicas), como a personas con elevadas cantidades (policitemia o aumento fisiológico por altura), sin presentar variaciones en los resultados y ningún tipo de interferencias durante la fase analítica.

Tabla 6*Tacna: Evaluación de la conservación de la madurez, 2017*

Madurez	Valor kappa	Error típ. Asint.	T aprox.	Sig. Aprox.
Identificación mieloblastos	1.000	0.000	10.149	.000
Identificación promielocitos	1.000	0.000	10.149	.000
Identificación de mielocitos	1.000	0.000	10.149	.000
Identificación metamielocitos	1.000	0.000	10.149	.000
Identificación bandas	.928	.071	9.444	.000
Identificación eritroblastos	1.000	0.000	10.149	.000
Identificación eritro. basófilo	1.000	0.000	10.149	.000
Identificación eritro. policromatófilo	1.000	0.000	10.149	.000
Identificación eritro. ortocromático	1.000	0.000	10.149	.000
Identificación reticulocitos	.899	.070	9.819	.000

Fuente: Instrumento de comparación entre el TPF y anticoagulantes protocolizados, 2017

Elaboración: Propia

En la tabla 6 se observa la similitud de los resultados entre el TPF y el EDTA en la conservación de la madurez de los elementos formes de la sangre tanto en la serie roja como blanca, lo que indica el mantenimiento las características propias de cada uno de los estadios de madurez sin presentar interferencias durante su lectura; demostrándose que entre el TPF y el EDTA, no existen diferencias estadísticamente significativas (Anexo 6) teniendo en todos los casos un alto nivel de concordancia según los valores de Kappa (mayor al 0.80). Demostrando que puede utilizarse este nuevo anticoagulante en pacientes que presentan formas inmaduras, porque reduce la cantidad de sangre extraída y además porque se ha comprobado que mantiene la morfología, tamaño y presencia de inclusiones propios de sus etapas de maduración, favoreciendo principalmente a los pacientes con leucemia o anemia crónicas.

Tabla 7*Tacna: Evaluación de la conservación de la distribución, 2017*

Distribución	Valor kappa	Error típ. Asint.	T aproximada	Sig. Aproximada
Amplitud de distribución eritrocitaria – CV	1.000	0.000	10.149	.000
Amplitud de distribución eritrocitaria-SD	1.000	0.000	10.149	.000
Amplitud de distribución plaquetaria	.865	.094	8.857	.000

Fuente: Instrumento de comparación entre el TPF y anticoagulantes protocolizados, 2017

Elaboración: Propia

En la tabla 7 se observa tres parámetros en indican la concordancia existente entre el TPF y el EDTA respecto a la conservación de distribución de los elementos formes de la sangre, los dos primeros respecto a la serie roja (el primero es el coeficiente de variación y el segundo la desviación estándar), y el último a la serie plaquetaria; donde se observa que el uso del TPF arroja resultados estadísticamente iguales que usando el EDTA, mostrando un alto nivel de concordancia (mayor al 0.80) en ambos parámetros. Sin embargo, a nivel de la distribución plaquetaria, al evaluar cada uno de los resultados obtenidos, se observa que existe una leve disminución cuando se hace uso del TPF (Anexo 7); comprobándose de esta manera lo que se menciona en tablas anteriores, que el TPF provoca una leve adhesión entre las plaquetas, lo que hace que su distribución disminuya.

Tabla 8*Tacna: Evaluación de la conservación de los antígenos eritrocitarios, 2017*

Antígenos eritrocitarios	Valor kappa	Error típ. Asint.	T aproximada	Sig. Aproximada
Grupo sanguíneo	1.000	0.000	12.207	.000
Intensidad de grupo	1.000	0.000	10.050	.000
Factor Rh	1.000	0.000	10.050	.000
Intensidad de Rh	1.000	0.000	10.883	.000

Fuente: Instrumento de comparación entre el TPF y anticoagulantes protocolizados, 2017

Elaboración: Propia

En la tabla 8 se observa la similitud en los resultados obtenidos con el TPF y el EDTA respecto a la conservación de los antígenos eritrocitarios destinados a la identificación del grupo sanguíneo y factor Rh de cada persona, donde se observa que el TPF muestra los mismos resultados que los obtenidos con el EDTA (concordancia 1.0 según el coeficiente Kappa), tanto en la tipificación de cada uno de los grupos como la intensidad de su reacción (Anexo 8). Por lo tanto, queda demostrado que este nuevo anticoagulante mantiene intacto los antígenos eritrocitarios y no causa interferencias en la unión con su respectivo antisuero, pudiendo usarse para la identificación del grupo sanguíneo y factor Rh de cada persona.

Tabla 9*Tacna: Evaluación de la conservación de los factores de coagulación, 2017*

Tiempo de coagulación	Valor kappa	Error típ. Asint.	T aproximada	Sig. Aproximada
Tiempo de protrombina	.881	.047	9.009	.000
Tiempo parcial de tromboplastina activada	.917	.047	9.343	.000
Fibrinógeno	.932	.038	9.966	.000

Fuente: Instrumento de comparación entre el TPF y anticoagulantes protocolizados, 2017

Elaboración: Propia

En la tabla 9 se observa la concordancia que existe entre los resultados obtenidos con TPF y el citrato de sodio, donde se evalúan tres parámetros que indican si los factores de coagulación se mantienen lábiles al mezclar la sangre con el nuevo anticoagulante. El primer parámetro (TP) evalúa la vía extrínseca de la cascada de coagulación; el segundo (TPTA) evalúa la vía intrínseca, y el último (fibrinógeno) evalúa la parte final de la cascada. Comprobándose que el uso del TPF (anticoagulante en estudio) arroja resultados estadísticamente iguales que la sangre anticoagulada con el citrato de sodio (anticoagulante protocolizado), pudiendo utilizarse este nuevo compuesto en exámenes de coagulometría. Sin embargo, a pesar de que los resultados de valor Kappa son elevados (nivel de concordancia mayor al 0.80), al evaluar cada resultado se puede observar que las muestras con TPF son ligeramente más prolongados en los tres parámetros (Anexo 9), lo que puede ser clínicamente relevante en algunos casos.

Tabla 10

Tacna: Hallazgos morfológicos en lámina periférica en función al tiempo, 2017

Hallazgos morfológicos n=103		Menor 1 hora				4 horas				6 horas					
		EDTA		TPF		EDTA		TPF		EDTA		TPF			
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
Serie roja	Macroцитos	7	6.8	7	6.8	7	6.8	7	6.8	9	8.74	8	7.77		
	Microцитos	18	17.48	18	17.48	20	19.42	18	17.48	22	21.36	19	18.45		
	Equinocitos	1	0.97	/	/	1	0.97	/	/	3	2.91	1	0.97		
-----		Vacuolización		4	3.88	3	2.91	4	3.88	4	3.88	5	4.85	4	3.88
-----		Multilobulación		/	/	/	/	/	/	/	/	2	1.94	1	0.97
Serie blanca	Linfocitos reactivos	7	6.8	7	6.8	7	6.8	7	6.8	8	7.77	8	7.77		
	Degranulación	3	2.91	2	1.94	4	3.88	3	2.91	6	5.83	4	3.88		
	Presencia de bastón de Auer	2	1.94	2	1.94	2	1.94	2	1.94	/	/	1	0.97		
	Deformación	/	/	/	/	/	/	/	/	5	4.85	4	3.88		
-----		Agregado plaq.		/	/	2	1.94	1	0.97	3	2.91	3	2.91	3	2.91
Serie plaquetaria	Macroplaquetas	5	4.85	6	5.83	6	5.83	6	5.83	8	7.77	8	7.77		
	Degranulación plaquetaria	/	/	1	0.97	1	0.97	1	0.97	1	0.97	1	0.97		

Fuente: Instrumento de comparación entre el TPF y anticoagulantes protocolizados, 2017

Elaboración: Propia

En la tabla 10 se hace una comparación entre ambos anticoagulantes donde se muestra los cambios morfológicos que se pueden observar en la lectura de lámina periférica según el pasar de las horas, donde se observa que en ambos anticoagulantes se puede realizar el extendido de sangre hasta 4 horas de su extracción, ya que no presenta alteraciones adicionales a las que puede presentar cada paciente.

Sin embargo, como se observa en la Figura 6, el uso del TPF durante la primera hora de la toma de muestra, activa las plaquetas provocando que se adhieran entre ellas, siendo observado como agregación plaquetaria, lo que hace disminuir su recuento y en algunos casos puede causar su degranulación.

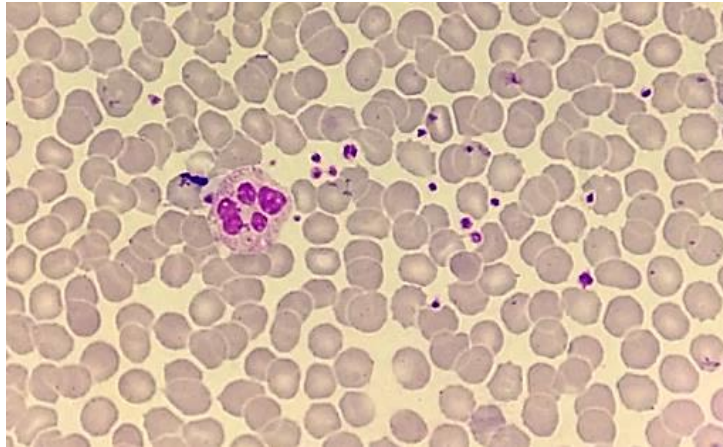


Figura 6. Agregación plaquetaria ocasionada por el TPF

Por otro lado, se observa que el TPF preserva mejor la morfología de la serie roja y blanca en comparación con el EDTA, ya que evita el deterioro de las células sanguíneas desde la toma de muestra hasta las cuatro horas posteriores, observándose que mantiene intacta la pared del hematíe con menor presencia de microcitos y equinocitos (Figura 7), y evitando degranulación de los leucocitos (Figura 8) y vacuolización de su citoplasma.

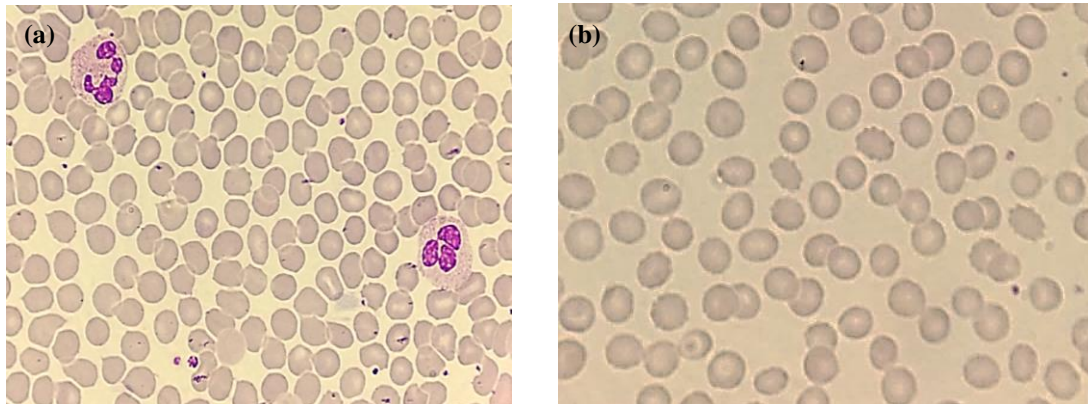


Figura 7. Muestras sanguíneas a las 4 horas de la toma de muestra. (a) Hematíes conservados y neutrófilos con TPF. (b) Microcitos y equinocitos en muestra con EDTA

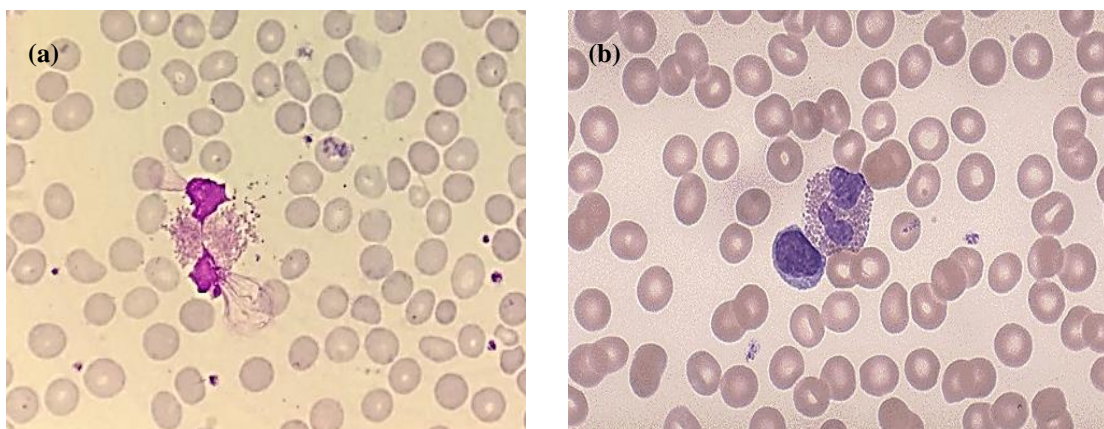


Figura 8. Muestras sanguíneas a las 4 horas de la toma de muestra. (a) Eosinófilo degranulado en muestra con EDTA. (b) Eosinófilo y linfocito conservado con TPF

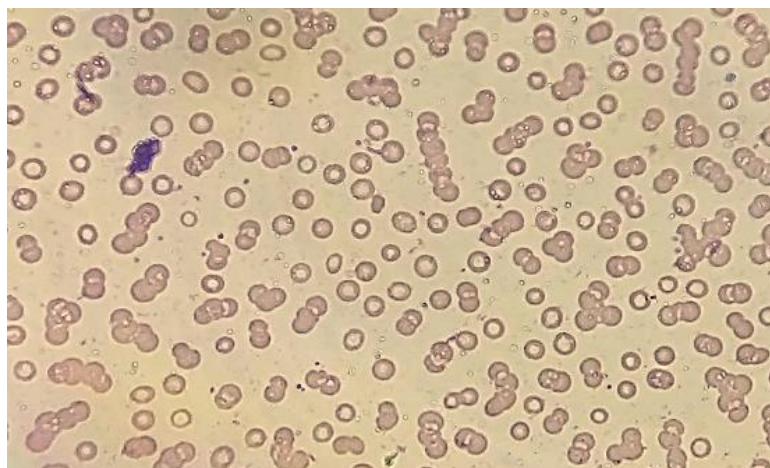


Figura 9. Muestra sanguínea con TPF de un paciente con presencia de Rouleaux

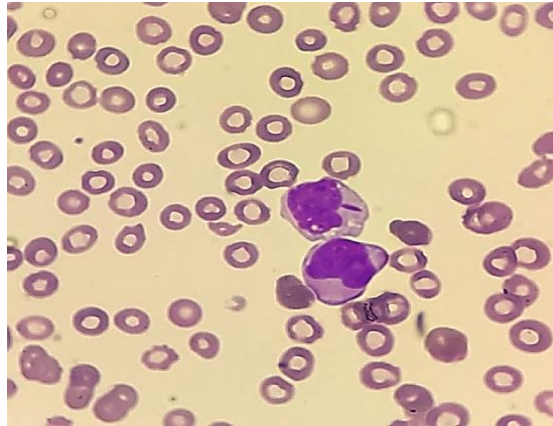


Figura 10. Muestra sanguínea con TPF donde se observa bastón de Auer en un paciente con leucemia mieloide

4.5 COMPROBACIÓN DE HIPÓTESIS (DISCUSIÓN)

El Tripolifosfato de sodio es un componente que ha mostrado ser un efectivo anticoagulante para la realización de exámenes hematológicos y de coagulación en seres humanos, ya que ha demostrado obtener resultados estadísticamente similares a los obtenidos con los anticoagulantes protocolizados en pacientes sanos y con patologías, que al igual que la investigación realizada por Rangel et al. se observa que el TPF tiene la propiedad de evitar la coagulación de la sangre cumpliendo la función del EDTA y citrato de sodio al mismo tiempo, reduciendo así la cantidad de sangre extraída, favoreciendo sobre todo a los pacientes oncológicos, neonatos, prematuros, etc. a quienes se les está contraindicado la extracción de grandes cantidades de sangre.

Referente a la conservación de la integridad de los elementos formes de la sangre, el TPF conserva la cantidad, tamaño, madurez y distribución de cada una de las células sanguíneas perteneciente a la serie roja, blanca y plaquetaria sin presencia de alteraciones relevantes; sin embargo, para López et al, el TPF ocasiona una marcada disminución en el recuento plaquetario afectando notablemente los resultados obtenidos e invalidando al TPF como anticoagulante para este análisis, pero hay que

tener en cuenta que los autores hicieron uso del TPF al 94% (TPF técnico) y en este apartado se usó TPF al 99% de pureza. Además, el TPF tiene la ventaja de no presentar dentro de sus compuestos EDTA ni sus derivados, evitando que se produzca pseudotrombocitopenia dependiente de EDTA, ya que como lo menciona Ruiz, este fenómeno lo padece ciertas personas sin saberlo, que es una alteración que solo se da cuando la sangre entra en contacto con el EDTA causando aglutinación plaquetaria y, por lo tanto, una notable disminución en su recuento.

El tiempo en la realización de lámina periférica es otro punto clave que se debe evaluar en el uso de anticoagulantes para la realización de exámenes hematológicos, ya que también determina la capacidad del anticoagulante de mantener íntegros a los elementos formes de la sangre; el TPF tiene la capacidad de mantener la sangre por 4 horas a temperatura ambiente al igual que el EDTA, con la diferencia que existe menores cambios morfológicos con el TPF al pasar las horas. La principal alteración producida por el TPF es la presencia de pequeñas agregaciones plaquetaria desde la primera hora de extraída la sangre lo que concuerda con la investigación realizada por López et al. Sin embargo, esta misma investigación halló que la serie eritrocitaria se ve más alterada con el TPF que con el EDTA al pasar las 4 horas de extraída la sangre, que es opuesto a lo hallado en nuestro trabajo de investigación, debido a que se observa mayor alteración en la serie roja de la sangre con EDTA, sobre todo cuando pasan las 4 horas de la toma de muestra; esta diferencia puede deberse a que los autores hicieron uso del TPF técnico (94% de pureza).

Otro punto para evaluar la integridad de los elementos formes de la sangre, es la conservación de los antígenos eritrocitarios pertenecientes a la tipificación de los grupos sanguíneos, donde el TPF obtuvo concordancia en todos los casos con los resultados obtenidos con el EDTA, tanto en la tipificación del grupo sanguíneo como la intensidad de aglutinación; resultados que son respaldados por la investigación realizada por Gonzales et al, donde también se obtuvo similitud entre ambos anticoagulantes y comprobando que ambos compuestos pueden utilizarse indistintamente sin que haya interferencias durante su lectura.

Un punto crítico para los anticoagulantes son los análisis de coagulometría (Tiempo de protrombina, Tiempo parcial de tromboplastina activada y fibrinógeno), ya que se necesita que el compuesto preserve los factores de coagulación lábiles, objetivo que se logra a una concentración y cantidad exacta del anticoagulante, como es el caso de citrato de sodio que es el anticoagulante protocolizado. En el caso del TPF, los resultados de coagulometría son similares a los obtenidos con el citrato de sodio, esto es respaldado por Rangel et al. quienes también demostraron que el TPF puede reemplazar al citrato de sodio. Sin embargo, Rangel et al. solo trabajaron con adultos sanos, donde los resultados estaban dentro de los rangos de referencia y eran pacientes no medicados. En este apartado, se trabajó con todo tipo de pacientes, incluyendo pacientes con tratamiento de Warfarina u otro anticoagulante y niños con hemofilia, donde sus resultados salen de los rangos referenciales; aun así, el TPF mostró resultados similares al del anticoagulante protocolizado, añadiendo al trabajo de Rangel, que la presencia de medicación o alteraciones en algún factor de coagulación, no afecta a los resultados obtenidos por el TPF.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

1. El TPF al 99% de pureza y a una concentración del 5%, es un compuesto que puede usarse como anticoagulante común para exámenes hematológicos y de coagulación mostrando resultados estadísticamente similares al de los obtenidos con los anticoagulantes protocolizados.
2. Este nuevo anticoagulante es capaz de mantener la cantidad, tamaño, color, madurez y distribución de los elementos formes de la sangre, además de mantener los antígenos eritrocitarios propios de la tipificación del grupo sanguíneo y Rh; pudiéndose utilizar este nuevo compuesto para los exámenes hematológicos.
3. El TPF es útil para la realización de análisis de coagulometría, ya que preserva los factores de coagulación lábiles sin presentar interferencias durante la medición, sobre todo en los pacientes patológicos o que presentan tratamiento con anticoagulantes.
4. La lámina periférica se puede realizar hasta 4 horas de la toma de muestra si la sangre es extraída haciendo uso del TPF, ya que ha demostrado que durante ese tiempo evita la presencia de alteraciones en los elementos formes de la sangre, pudiendo realizarse su lectura sin la presencia de interferencias.

5.2 SUGERENCIAS O PROPUESTA

1. Los laboratorios de Tacna pueden implementar el uso de este nuevo anticoagulante con la finalidad de reducir la cantidad de sangre extraída de 6,7 a 3 ml, lo que beneficiaría directamente a los pacientes que acudan a su laboratorio ya que por cuestión de edad, cultura o patología se podrían realizar todos estos análisis. De igual manera, al ser este anticoagulante un compuesto de bajo costo, es factible brindar precios más razonables y accesibles al servicio de la población tacneña.
2. Para que el Tripolifosfato de sodio pueda obtener resultados óptimos, es necesario que se utilice al 99% de pureza y evitar el uso del Tripolifosfato de sodio técnico (94% de pureza) ya que contiene compuestos que interfieren con su mecanismo acción. Adicionalmente, este anticoagulante debe usarse al 5% de concentración y a una relación de 1:30 con la sangre.
3. En exámenes de coagulometría como el tiempo de protrombina, tiempo parcial de tromboplastina activada y fibrinógeno, además del recuento plaquetario en muestras anticoaguladas con Tripolifosfato de sodio, hay que tener cuidado con los pacientes que se encuentre en seguimiento de sus resultados y bordeando los límites de los rangos referenciales, porque existen algunos casos que una pequeña variación en el resultado puede tener relevancia clínica.
4. Tomar como base la presente investigación para trabajos posteriores que involucren al Tripolifosfato de sodio como anticoagulante y ayuden a mejorar la calidad de vida de las personas; asimismo realizar trabajos en poblaciones de mayor tamaño y agrupados en patologías, que permitan estandarizar criterios para el uso de este compuesto.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Gómez A, Casas M. *Ángel: Interpretación clínica del laboratorio*. 8va ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2014
- (2) Rodak B, Fritsma G, Keohane E. *Hematología: Fundamentos y Aplicaciones Clínicas*. 4ta ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2014; 205-317.
- (3) King S, Schub M. *The Phlebotomy. TextBook*. 3ra ed. Philadelphia: DavisPlus; 2011
- (4) Instituto Nacional de Salud. *Procedimientos de laboratorio: Laboratorios locales I, Laboratorios locales II*. Ministerio de Salud. Instituto Nacional de Salud; 2013
- (5) Vives J, Aguilar J. *Manual de Técnicas de Laboratorio en Hematología*. 4ta ed. Barcelona. Elsevier Masson; 2014
- (6) Narita M, Masayuki H, Takubo T, Tatsumi N. Analogues of Ethylene diamine tetraacetic Acid and Sodium Fluoride as Anticoagulants. *Osaka City Med J* [Internet]. 2000 [Citado 14 Abril 2017]; 46(1): 71-87. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10983468>
- (7) Yokota M, Tatsumi N, Tsuda I, Nishioka T, Takubo T. CTAD as a universal anticoagulant. *J Autom Methods Manag Chem*. [Internet]. 2003 [Citado 20 Mayo 2017]; 25(1):17-20. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18924886>

- (8) Kinoshita Y, Ohta K, Yamane T, Hino M, Takubo T, Samori T, Tatsumi N. Synthetic polymer sulphonated polyisoprene as a universal anticoagulant for laboratory testing. *J Clin Lab Anal* [Internet]. 2000 [Citado 17 Marzo 2017]; 14(4), 180-187. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10906771>
- (9) Rangel L, Quintero M, Archile A, Benítez B, González M, et al. Evaluación del tripolifosfato de sodio como anticoagulante en determinaciones hematológicas en seres humanos. *Rev Cubana de Hematol, Inmunol Hemoter* [Internet]. 2015 [Citado 10 Marzo 2017]; 25(2), 34-44. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_isoref&pid=S0864-02892009000200005&lng=es&tlng=es
- (10) Rangel L, Archile A, Castejón O, Izquierdo, P. Márquez, E. Utilización de Tripolifosfato como anticoagulante y su efecto sobre las propiedades emulsificantes del plasma. *FCV-LUZ* [Internet]. 1995 [Citado 08 Octubre 2017]; 5(2), 111-116. Disponible en: [file:///C:/Users/toshiba/Downloads/14161-14553-1-PB%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/toshiba/Downloads/14161-14553-1-PB%20(1).pdf)
- (11) Pérez J, Ríos R, García A, Jurado M. *Guía laboratorio: Servicio de hematología y hemoterapia*. Hospital Universitario Virgen de las Nives; 2011
- (12) Crespo M, García B, Rubio F. *Técnicas de Análisis Hematológico*. Madrid: Paraninfo Editorial; 2015; 208p.
- (13) Fernández JS, Oliveros CP, González LS, Gastelbondo R, Mulett H, Godoy J, et al. Guía de manejo anticoagulación con citrato de sodio para terapia de reemplazo renal en niños. *Acta Colom Cuid Int*. [Internet]. 2012 [Citado 17 Febrero 2017]; 12 (3): 179-184. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_nlinks&pid=S2254-2884201800010000900023&lng=en

- (14) Gonzales M, Castillo Y, Fernández D, Gonzales M, Quintero M, et al. Utilidad del tripolifosfato de sodio en la tipificación de grupos y factor Rh en escolares. *Act Cient de la Soc Venez de Bioanal Espec* [Internet]. 2012 [Citado 02 Febrero 2017]; 10(2), 91-95. Disponible en: <http://docplayer.es/38851585-Utilidad-del-tripolifosfato-de-sodio-en-la-tipificacion-de-grupos-sanguineos-y-factor-rh-en-escolares.html>
- (15) Golac M, Zevallos V, Chacón P, Muñoz M, Rivas R, et al. Variaciones de los parámetros hematológicos, utilizando anticoagulantes EDTA K3 y EDTA K2. *Anales de la Facultad de Medicina*. [Internet]. 2012 [Citado 02 Mayo 2017]; 73(1), 25-30. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/article/view/2138/1852>
- (16) Ruiz W. Diagnóstico y tratamiento de la púrpura trombocitopénica inmunológica. *Rev Med Hered* [Internet]. 2015 [Citado 02 Agosto 2017]; 26(4), 246-255. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rmh/v26n4/a08v26n4.pdf>
- (17) Concha F. Efecto *in vitro* del látex de *Ficus insípida* sobre la cascada de la coagulación sanguínea. *Rev Med Hered* [Internet]. 2010 [Citado 02 Julio 2017]; 21(3), 146-152. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2010000300006
- (18) López S, Vivanco E. Estudio piloto para establecer la utilidad del Tripolifosfato de sodio (TPF) como anticoagulante de elección en la realización de pruebas hematológicas en un laboratorio de la ciudad de Quito, setiembre a noviembre del 2016 [Tesis] [Quito]: Pontificia Universidad Católica del Ecuador, 2017
- (19) Mayer L, Bertoluzzo S, Bertoluzzo M. Determinación del Agregado Mínimo de Tripolifosfato de Sodio en Pastores Cárnicos. *Anales AFA*. [Internet]. 2010 [Citado 09 Julio 2017]; 22(1), 92-94. Disponible en: <file:///C:/Users/toshiba/Downloads/21-1-147-1-10-20120523.pdf>

- (20) Guevara M, Tejada R y Sánchez A. *Hematología clínica: trabajos prácticos*. Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de ciencia exactas y naturales y agrimensura; 2012
- (21) Ruiz A. G. y Ruiz D. G. *Fundamentos de hematología*. 5ta ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2014; 125-245
- (22) Carmona J, Ríos E, Vilar J, Giraldo C, López C. Efectos de dos anticoagulantes sobre el conteo celular y parámetros de activación plaquetaria de plasma rico en plaquetas de bovinos. *Arch Med Vet* [Internet]. 2014 [Citado 17 Abril 2017]; 46(1), 375-380. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X2014000300005
- (23) Anónimo. *Pruebas básicas y especiales para el estudio de las plaquetas y sistema fibrinolítico*. (Guía de trabajo). Universidad Nacional de Tucumán. Tucumán, Argentina, 2014
- (24) Bosque S, Mombiela A, Arranz D. Aprendiendo de los errores: fenómeno EDTA. *SEMERGEN* [Internet]. 2009 [Citado 28 Febrero 2017]; 35(2), 105-107. Disponible en: <http://www.elsevier.es/pt-revista-medicina-familia-semergen-40-articulo-aprendiendo-los-errores-fenomeno-edta-13134022>
- (25) Ohashi N, Nakamura K, Inokuchi R, Sato H, Tokunaga K, et. al. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia complicated by eosinophilic pneumonia. *Am J Emerg Med* [Internet]. 2013 [Citado 16 Febrero 2017]; 31(7), 1157- 1179. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23702069>
- (26) Ulloa B, Tapia M, Toscano C, Pozo C. *Fundamentos de hematología*. Quito: Editorial Edimec; 2017; 17-79

- (27) Ventimiglia F, Rivas M, Vildoza A, Orsilles M. Valor diagnóstico de la morfología eritrocitaria en las anemias. *Acta Bioquím Clín Latinoam* [Internet]. 2017 [Citado 02 Junio 2017]; 51(3): 379-386. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572017000300013
- (28) Duboscq C, Kordich L. Efecto de la concentración de citrato de sodio sobre las pruebas de hemostasia. *Acta Bioquím Clín Latinoam* [Internet]. 2015 [Citado 10 Mayo 2017]; 39(1): 87-92. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572005000100012
- (29) Julio L, Montero P y Acevedo D. *Plasma sanguíneo de diferentes especies: una alternativa en la industria alimentaria*. (Guía de trabajo). Universidad de Cartagena, Colombia, 2013.
- (30) Marquéz E, Izquierdo P, Arias B y Torres G. Efecto de la adición de plasma sanguíneo de bovino sobre la estabilidad de la emulsión y contenido proteico de productos cárnicos emulsificados. *Rev Fac Agron* [Internet]. 1995 [Citado 02 Marzo 2017]; 12(4), 511-522. Disponible en: <file:///C:/Users/toshiba/Downloads/11589-11860-1-PB.pdf>
- (31) Rangel L, Avendaño E, Guanipa A, Ruiz A, Quintero M, Briceño O, et al. Estudio comparativo de los parámetros hematológicos de pacientes con leucemia mieloide crónica en muestras tratadas con Tripolifosfato de sodio y con ácido etilendiaminotetraacético. Escuela de bioanálisis, Luz. Hospital Central Dr. Urquinaona, Maracaibo, 2012
- (32) Fleiss J, Cohen J, Everitt B. (1969). Large sample standard errors of kappa and weighted kappa. *Psychol Bul*, 172(1):323-327.

Anexo 1: Consentimiento informado**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO
DE INVESTIGACIÓN**

La intención de la presente es darle una idea básica sobre la investigación, los procedimientos que se realizará y lo que su participación implica. Si existe información que no le queda claro y desea obtener más información acerca de la investigación, por favor sírvase a realizar las preguntas respectivas. Usted recibirá una copia del consentimiento.

Título de la investigación:

“Tripolifosfato de Sodio como alternativa de anticoagulante para exámenes hematológicos y de coagulación para un laboratorio privado de Tacna 2017”

Investigadora

Lic. Mady Canelú Ramos Rojas, Tecnólogo Médico en mención a Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

CTMP: 9600

Sobre la investigación

Los análisis de hematología y de coagulación son exámenes de emergencia y rutina indispensables para el diagnóstico, seguimiento y tratamiento de diversas patologías. Para realizar estos exámenes se necesita dos tubos de sangre con anticoagulantes diferentes (EDTA y citrato de sodio) cada uno para cada tipo de análisis, extrayendo un total de 6,7 ml de sangre.

Existen diversos pacientes como niños y pacientes oncológicos a quienes están contraindicado la extracción de grandes cantidades de sangre, por lo que diversos autores han buscado el “anticoagulante universal” que cumpla las funciones de estos dos compuestos y reduzca la cantidad de sangre extraída.

Es así que la presente investigación se basa en comprobar la efectividad del Tripolifosfato de sodio como “anticoagulante universal”, realizando análisis hematológicos y de coagulación a pacientes de diferente sexo, edad y patologías, comparando los resultados del Tripolifosfato de sodio con los obtenidos de anticoagulantes protocolizados (EDTA y citrato de sodio), la similitud en los resultados, confirmaría la efectividad de este nuevo compuesto.

Su participación

Su participación en la presente investigación es completamente voluntaria y no presenta riesgos, aunque puede presentar dolor momentáneo durante la extracción de sangre. Usted puede elegir participar o no, sin que los servicios que usted reciba en esta unidad de salud prestadora de servicios se vean afectadas; no tendrá que pagar nada adicional por participar en el estudio ni recibirá ningún tipo de beneficio económico. Además, se mantendrá la confidencialidad de cualquier información personal que se obtenga en relación con este estudio.

El estudio a realizar consiste en la extracción de sangre venosa en dos oportunidades, el primero, obteniendo 6,7 ml de sangre en dos tubos al vacío que contienen EDTA y citrato de sodio; el segundo, obteniendo 3 ml de sangre en un tubo de vidrio que contiene Tripolifosfato de sodio. Las muestras recolectadas serán analizadas durante la primera hora, después de 4 horas y luego de 6 horas de la toma de muestra. Los análisis se realizarán de manera automatizada y los resultados obtenidos serán enviados al correo electrónico que deje indicado.

Su firma indica que usted ha entendido satisfactoriamente la información sobre su participación en la presente investigación y está de acuerdo en participar. Sin embargo, es libre de retirarse de la investigación en cualquier momento.

Si tiene alguna consulta relacionado a la investigación, puede contactarse con la investigadora:

T.M. Mady Canelú Ramos Rojas

Teléfono de contacto: 981810820

Correo electrónico: canelu.ramos.rojas@gmail.com

Firma del participante

Nombre: _____

DNI: _____

Firma del apoderado

Nombre: _____

DNI: _____

Anexo 2

Operacionalización de variables

Variable	Definición	Dimensión	Sub dimensión	Indicador	Escala de medición
Efectividad de Triplifosfato de Sodio	Cualidad que posee el Tripolifosfato de sodio para mantener la integridad de los elementos formes de la sangre y preservar los factores de coagulación lábiles.	Mantenimiento de la integridad de los elementos formes de la sangre	Conservación de la Cantidad	Recuento de leucocitos	Intervalo
				Recuento de hematíes	Intervalo
				Recuento de plaquetas	Intervalo
				Cantidad de reticulocitos	Intervalo
				Cantidad de neutrófilos	Intervalo
				Cantidad de linfocitos	Intervalo
				Cantidad de monocitos	Intervalo
				Cantidad de eosinófilos	Intervalo
Cantidad de basófilos	Intervalo				

	Hematocrito	Intervalo
Conservación del Tamaño	Volumen corpuscular medio	Intervalo
	Volumen plaquetario medio	Intervalo
	Hemoglobina	Intervalo
Conservación de la Coloración	Hemoglobina corpuscular media	Intervalo
	Concentración de la hemoglobina corpuscular media	Intervalo
Conservación de la Madurez	Identificación mieloblastos	Intervalo
	Identificación Promielocitos	Intervalo
	Identificación de mielocitos	Intervalo
	Identificación metamielocitos	Intervalo
	Identificación bandas	Intervalo

	Identificación eritroblastos	Intervalo
	Identificación eritroblasto basófilo	Intervalo
	Identificación eritroblasto policromatófilo	Intervalo
	Identificación eritroblasto ortocromático	Intervalo
	Identificación reticulocitos	Intervalo
	<hr/>	
	Amplitud de distribución eritrocitaria -CV	Intervalo
Conservación de la Distribución	Amplitud de distribución eritrocitaria -SD	Intervalo
	Amplitud de distribución plaquetaria	Intervalo
	<hr/>	

		Conservación de los antígenos eritrocitarios	Intensidad de aglutinación	Intervalo
	Preservación de los factores coagulación lábil	Tiempo de coagulación	Tiempo de formación de coágulo	Intervalo
Concentración de Tripolifosfato de sodio	Cantidad en gramos de TPF que se debe añadir a 1000 ml de agua destilada	Concentración de Tripolifosfato de sodio	Concentración de Tripolifosfato de sodio	Intervalo
Cantidad de Tripolifosfato de sodio	Relación anticoagulante/ sangre que se debe mantener para asegurar resultados de calidad	Cantidad de Tripolifosfato de sodio	Cantidad de Tripolifosfato de sodio	Intervalo

Elaboración: Propia

Anexo 3*Evaluación de la conservación de la cantidad, 2017*

Kappa: 1.000		Recuento de leucocitos (TPF)			Total
		Disminuido	Normal	Aumentado	
Recuento de leucocitos (EDTA)	Disminuido	10	0	0	10
	Normal	0	59	0	59
	Aumentado	0	0	34	34
Total		10	59	34	103

Kappa: 0.980		Recuento de hematíes (TPF)			Total
		Disminuido	Normal	Aumentado	
Recuento de hematíes (EDTA)	Disminuido	9	0	0	9
	Normal	0	60	0	60
	Aumentado	0	1	33	34
Total		9	61	33	103

Kappa: 0.896		Recuento de plaquetas (TPF)			Total
		Disminuido	Normal	Aumentado	
Recuento de plaquetas (EDTA)	Disminuido	17	0	0	17
	Normal	0	70	0	70
	Aumentado	1	4	11	16
Total		18	74	11	103

Kappa: 0.856		Cantidad de neutrófilos (TPF)			Total
		Disminuido	Normal	Aumentado	
Cantidad de neutrófilos (EDTA)	Disminuido	14	4	0	18
	Normal	0	47	2	49
	Aumentado	0	3	33	36
Total		14	54	35	103

Kappa: 0.984		Cantidad de linfocitos (TPF)			Total
		Disminuido	Normal	Aumentado	
Cantidad de linfocitos (EDTA)	Disminuido	29	0	0	29
	Normal	0	56	1	57
	Aumentado	0	0	17	17
Total		29	56	18	103

Kappa: 0.815		Cantidad de monocitos (TPF)			Total
		Disminuido	Normal	Aumentado	
Cantidad de monocitos (EDTA)	Disminuido	8	1	0	9
	Normal	3	89	0	92
	Aumentado	0	0	2	2
Total		11	90	2	103

Kappa: 0.871		Cantidad de eosinófilos (TPF)		Total
		Normal	Alterado	
Cantidad de eosinófilos (EDTA)	Normal	82	2	84
	Alterado	2	17	19
Total		84	19	103

Kappa: 1.000		Cantidad de basófilos (TPF)		Total
		Normal	Alterado	
Cantidad de basófilos (EDTA)	Normal	101	0	101
	Alterado	0	2	2
Total		101	2	103

Fuente: Instrumento de comparación entre el TPF y anticoagulantes protocolizados, 2017

Elaboración: Propia

Anexo 4*Evaluación de la conservación del tamaño, 2017*

Kappa: 0.941		Hematocrito (TPF)			Total
		Disminuido	Normal	Aumentado	
Hematocrito (EDTA)	Disminuido	36	0	0	36
	Normal	0	62	0	62
	Aumentado	0	3	2	5
Total		36	65	2	103

Kappa: 0.976		Volumen corpuscular medio (TPF)			Total
		Disminuido	Normal	Aumentado	
Volumen corpuscular medio (EDTA)	Disminuido	18	0	0	18
	Normal	0	77	1	78
	Aumentado	0	0	7	7
Total		18	77	8	103

Kappa: 0.648		Volumen plaquetario medio (TPF)		Total
		Normal	Aumentado	
Volumen plaquetario medio (EDTA)	Disminuido	1	0	1
	Normal	95	2	97
	Aumentado	1	4	5
Total		97	6	103

Fuente: Instrumento de comparación entre el TPF y anticoagulantes protocolizados, 2017

Elaboración: Propia

Anexo 5*Evaluación de la conservación de la coloración, 2017*

Kappa: 0.949		Hemoglobina (TPF)			Total
		Disminuido	Normal	Aumentado	
Hemoglobina (EDTA)	Disminuido	25	0	0	25
	Normal	0	59	2	61
	Aumentado	0	1	16	17
Total		25	60	18	103

Kappa: 0.957		Hemoglobina corpuscular media (TPF)			Total
		Disminuido	Normal	Aumentado	
Hemoglobina corpuscular media (EDTA)	Disminuido	24	0	0	24
	Normal	0	71	2	73
	Aumentado	0	0	6	6
Total		24	71	8	103

Kappa: 0.937		Concentración de la hemoglobina corpuscular media (TPF)			Total
		Disminuido	Normal	Aumentado	
Concentración de la hemoglobina corpuscular media (EDTA)	Disminuido	16	0	0	16
	Normal	1	83	0	84
	Aumentado	0	1	2	3
Total		17	84	2	103

Fuente: Instrumento de comparación entre el TPF y anticoagulantes protocolizados, 2017

Elaboración: Propia

Anexo 6*Evaluación de la conservación de la madurez, 2017*

Kappa: 1.000		Identificación mieloblastos (TPF)		Total
		Normal	Alterado	
Identificación mieloblastos (EDTA)	Normal	101	0	101
	Alterado	0	2	2
	Total	101	2	103
Kappa: 1.000		Identificación promielocitos (TPF)		Total
		Normal	Alterado	
Identificación promielocitos (EDTA)	Normal	101	0	101
	Alterado	0	2	2
	Total	101	2	103
Kappa: 1.000		Identificación de mielocitos (TPF)		Total
		Normal	Alterado	
Identificación de mielocitos (EDTA.)	Normal	101	0	101
	Alterado	0	2	2
	Total	101	2	103
Kappa: 1.000		Identificación metamielocitos (TPF)		Total
		Normal	Alterado	
Identificación metamielocitos (EDTA)	Normal	101	0	101
	Alterado	0	2	2
	Total	101	2	103

Kappa: 0.928		Identificación bandas (TPF)		Total
		Normal	Alterado	
Identificación bandas (EDTA)	Normal	95	1	96
	Alterado	0	7	7
Total		95	8	103

Kappa: 1.000		Identificación eritroblastos (TPF)		Total
		Normal	Alterado	
Identificación Eritroblastos (EDTA)	Normal	101	0	101
	Alterado	0	2	2
Total		101	2	103

Kappa: 1.000		Identificación eritroblasto basófilo (TPF)		Total
		Normal	Alterado	
Identificación eritroblasto basófilo (EDTA)	Normal	101	0	101
	Alterado	0	2	2
Total		101	2	103

Kappa: 1.000		Identificación eritroblasto policromatófilo (TPF)		Total
		Normal	Alterado	
Identificación eritroblasto policromatófilo (EDTA)	Normal	101	0	101
	Alterado	0	2	2
Total		101	2	103

Kappa: 1.000		Identificación eritroblasto ortocromático (TPF)			Total
		Normal	Alterado		
		Identificación eritroblasto ortocromático (EDTA)	Normal	100	
	Alterado	0	3	3	
	Total	100	3	103	

Kappa: 0.899		Identificación reticulocitos (TPF)			Total
		Disminuido	Normal	Aumentado	
		Identificación reticulocitos (EDTA)	Disminuido	1	
	Normal	0	91	1	92
	Aumentado	0	1	9	10
	Total	1	92	10	103

Fuente: Instrumento de comparación entre el TPF y anticoagulantes protocolizados, 2017

Elaboración: Propia

Anexo 7*Evaluación de la conservación de la distribución, 2017*

Kappa: 1.000		Amplitud de distribución eritrocitaria-CV (TPF)		Total
		Normal	Aumentado	
Amplitud de distribución	Normal	89	0	89
eritrocitaria -CV (EDTA)	Aumentado	0	14	14
Total		89	14	103

Kappa: 1.000		Amplitud de distribución eritrocitaria-SD (TPF)		Total
		Normal	Aumentado	
Amplitud de distribución	Normal	91	0	91
eritrocitaria-SD (EDTA)	Aumentado	0	12	12
Total		91	12	103

Kappa: 0.865		Amplitud de distribución plaquetaria (TPF)		Total
		Normal	Aumentado	
Amplitud de distribución	Normal	94	0	94
plaquetaria (EDTA)	Aumentado	2	7	9
Total		96	7	103

Fuente: Instrumento de comparación entre el TPF y anticoagulantes protocolizados, 2017

Elaboración: Propia

Anexo 8*Evaluación de la conservación de los antígenos eritrocitarios, 2017*

Kappa: 1.000		Grupo sanguíneo (TPF)			Total
		O	A	B	
Grupo sanguíneo (EDTA)	O	86	0	0	86
	A	0	11	0	11
	B	0	0	4	4
Total		86	11	4	101

Kappa: 1.000		Intensidad de grupo sanguíneo (TPF)		Total
		-	4+	
Intensidad de grupo sanguíneo (EDTA)	-	86	0	86
	4+	0	15	15
Total		86	15	101

Kappa: 1.000		Factor Rh (TPF)		Total
		Positivo	Negativo	
Factor Rh (EDTA)	Positivo	99	0	99
	Negativo	0	2	2
Total		99	2	101

Kappa: 1.000		Intensidad de factor Rh (TPF)			Total
		-	3+	4+	
Intensidad de factor Rh (EDTA)	-	2	0	0	2
	3+	0	21	0	21
	4+	0	0	78	78
Total		2	21	78	101

Fuente: Instrumento de comparación entre el TPF y anticoagulantes protocolizados, 2017

Elaboración: Propia

Anexo 9*Evaluación de la conservación de los factores de coagulación, 2017*

Kappa: 0.881		Tiempo de protrombina (TPF)		Total
		Normal	Aumentado	
Tiempo de protrombina (citrato de sodio)	Normal	56	6	62
	Aumentado	0	41	41
Total		56	47	103

Kappa: 0.917		Tiempo parcial de tromboplastina activada (TPF)		Total
		Normal	Aumentado	
Tiempo parcial de tromboplastina activada (citrato de sodio)	Normal	78	3	81
	Aumentado	0	22	22
Total		78	25	103

Kappa: 0.932		Fibrinógeno (TPF)			Total
		Disminuido	Normal	Aumentado	
Fibrinógeno (citrato de sodio)	Disminuido	1	0	1	2
	Normal	0	71	2	73
	Aumentado	0	0	28	28
Total		1	71	31	103

Fuente: Instrumento de comparación entre el TPF y anticoagulantes protocolizados, 2017

Elaboración: Propia