



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

Y CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE

TECNOLOGÍA MÉDICA

**ÁREA DE LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA
PATOLÓGICA**

**“CONCORDANCIA DEL RECuento DE PLAQUETAS POR
MÉTODO MANUAL Y AUTOMATIZADO EN EL PACIENTE
NEFROLÓGICO ATENDIDO EN EL HOSPITAL VÍCTOR
LAZARTE ECHEGARAY - TRUJILLO, 2015”**

**TESIS PREPARADA PARA OPTAR EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA CON MENCIÓN EN
EL ÁREA DE LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA
PATOLÓGICA**

JORGE LUIS, GARCÍA VEGA

ASESOR:

LIC. SILVIA BOHYTRON ROSARIO

TRUJILLO, PERÚ

2016

HOJA DE APROBACIÓN

JORGE LUIS, GARCIA VEGA

**“CONCORDANCIA DEL RECuento DE PLAQUETAS POR MÉTODO
MANUAL Y AUTOMATIZADO EN EL PACIENTE NEFRÓLOGICO
ATENDIDO EN EL HOSPITAL VÍCTOR LAZARTE ECHEGARAY -
TRUJILLO, 2015”**

Esta tesis fue evaluada y aprobada para la obtención del título de
Licenciado en Tecnología Médica con mención en el Área de
Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica de la Universidad Alas
Peruanas.

TRUJILLO – PERÚ

2016

Se dedica éste trabajo a:

Rosa Amelia, mi madre que desde el cielo guía mis pasos y me da la fortaleza para seguir adelante y lograr tan anhelada meta.

Mi familia, que en todo momento me brindaron su apoyo y estímulo moral para la culminación de mis estudios.

Se agradece por su contribución para el desarrollo de ésta Tesis a:

Al MsC. Pedro Lezama Asencio, por su disposición siempre cordial con sus alumnos, el rigor científico que puso en cada una de sus sugerencias marcó la pauta del éxito del estudio.

A la Lic. TM. Margarita Desposorio Cubas, por su apoyo moral y consejo constante en la realización del presente trabajo.

A la Blga. Maruja Cardoso, por haber facilitado la ejecución de esta investigación en el laboratorio de Hematología del Hospital Víctor Lazarte.

A mi asesora Lic. TM. Silvia Bohytron Rosario, por su imprescindible aporte y espíritu crítico para culminación de la investigación.

A mi Alma Mater “UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS” en cuyas aulas recibí todo el conocimiento para la realización profesional.

RESUMEN

Actualmente, debido al avance tecnológico la automatización en el laboratorio clínico va en constante aumento; sin embargo, no todos los centros de atención de salud cuentan con equipos hematológicos automatizados para el recuento de plaquetas, o incluso éstos reportan recuentos discordantes, por lo que es necesario recurrir a técnicas manuales. Por ello, con el objetivo de determinar la concordancia del recuento de plaquetas entre el método manual empleando Cámara de Neubauer y el automatizado del contador hematológico MINDARY BC-6800 se desarrolló la presente investigación de tipo descriptivo, transversal no experimental en el Laboratorio de Hematología del Hospital Víctor Lazarte Echeagaray, Trujillo, analizando un total de 204 muestras sanguíneas que cumplían con los criterios de inclusión obtenidas de pacientes provenientes del Servicio de Nefrología. Los resultados se analizaron con el coeficiente de concordancia de Lin y el método gráfico de Bland-Altman empleando el software estadístico SPSS 22, y según la escala de valoración del primero podemos concluir que existe una concordancia moderada (0.94) entre ambos métodos analizados, con un I.C. de 95%.

Palabras clave: plaquetas, recuento automatizado, recuento manual.

ABSTRACT

Currently technological advances in automation in clinical lab is constantly increasing; however, not all health care centers have automated hematology equipment for platelet count, or sometimes show discordant counts, for that it is necessary to use manual techniques. Then, in order to determine the correlation between the manually platelet counting method using Neubauer Chamber and the automated method of hematologic counter MINDARY BC-6800, a descriptive, cross-sectional and non-experimental research was made in the Hematology Laboratory of Hospital Victor Lazarte Echegaray, of Trujillo, analyzing 204 blood samples that accomplish with the inclusion criteria obtained from patients attended in the Nephrology Department. The results were analyzed by the Lin concordance coefficient and graphical method of Bland-Altman using the statistical software SPSS 22, and according to the Lin scale it is possible to conclude that exist a moderate concordance (0.94) between the two analyzed methods with a CI of 95%

Keywords: platelets, automated counting, manually counting.

LISTA DE FIGURAS

Figura N° 1: Recuento plaquetario promedio según método.....29

Figura N° 2: Gráfico de Bland - Altman del recuento plaquetario entre el método manual y el método automatizado.....30

LISTA DE TABLAS

Tabla N° 1: Análisis del recuento plaquetario.....29

Tabla N° 2: Comparación del recuento plaquetas entre el método manual y el método automatizado.....30

ÍNDICE

CARATULA.....	1
HOJA DE APROBACIÓN.....	2
DEDICATORIA.....	3
AGRADECIMIENTO.....	4
RESUMEN.....	5
ABSTRACT.....	6
LISTA DE FIGURAS.....	7
LISTA DE TABLAS.....	8
INTRODUCCIÓN.....	11

CAPÍTULO 1: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del Problema.....	12
1.2. Formulación del Problema.....	16
1.2.1. Problema General.....	16
1.2.2. Problemas Específicos.....	16
1.3. Objetivos.....	16
1.3.1. Objetivo General.....	16
1.3.2. Objetivos Específicos.....	16
1.4. Justificación.....	16

CAPÍTULO 2: BASES TEORICAS

2.1. Bases Teóricas.....	18
2.1.1. Plaquetas.	18
2.1.2. Recuento de plaquetas	18
2.1.3. Interpretación de resultados.....	22
2.2. Antecedentes.....	22

CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA

3.1. Tipo de estudio.....	24
3.2. Diseño del Estudio.....	24
3.3. Población.....	24
3.4. Muestra	24
3.4.1. Criterios de Inclusión.....	25
3.4.2. Criterios de Exclusión.....	25
3.5. Operacionalización de Variables.....	26
3.6. Procedimientos y Técnicas.....	28
3.7. Plan de Análisis de Datos.....	28

CAPÍTULO 4: RESULTADOS ESTADÍSTICOS

4.1. Resultados.....	29
4.2. Discusiones de resultados.....	31
4.3. Conclusiones.....	34
4.4. Recomendaciones.....	34

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35
--	-----------

ANEXOS.....	38
--------------------	-----------

INTRODUCCIÓN

La serie megacariocítica se origina en la médula ósea a partir de una célula progenitora común a los demás linajes celulares; todo este desarrollo celular se denomina trombopoyesis, éste proceso es estimulado generalmente por la trombopoyetina y es responsable de generar la megacariopoyesis. Se sintetiza en hígado, riñones y músculo esquelético.

En condiciones normales, la cantidad de plaquetas se halla entre 150,000 - 450,000 x mm³ de sangre, independientemente de la edad, raza y sexo. Ocasionalmente pacientes con patologías nefrológicas que requieren de tratamiento sustitutorio pueden presentar un moderado descenso de plaquetas denominado trombocitopenia cuando el recuento plaquetario es menor a 150,000 x mm³.

Muchas veces cuando las alarmas de los equipos automatizados lanzan recuentos disminuidos, se recurre a la observación del frotis sanguíneo como medida de corroborar el conteo, sin embargo la forma ideal de cotejar el resultado es mediante el empleo de la técnica manual utilizando un hemocitómetro esta metodología tiene como desventaja que requiere mucho tiempo para la obtención del resultado.

Actualmente los equipos automatizados utilizan el principio de recuento por impedancia, dispersión de luz y citometría de flujo. En el método manual (Brecher y Cronkite) se emplea una Cámara de Neubauer y una solución que lisa los hematíes. Así mismo la muestra a emplear debe ser sangre venosa con anticoagulante EDTA.

El presente estudio tiene por objetivo analizar y comparar ambas metodologías de recuento y establecer si existe concordancia en los datos encontrados, esto nos permitirá tener una alternativa de método de recuento y sobre todo confiable y que pueda ser utilizada en laboratorios en las cuales no se cuenta con instrumentos hematológicos automatizados.

1. PROBLEMA DE INVESTIGACION

1.1 Planteamiento del problema

La médula ósea es el sitio donde se producen las células sanguíneas, a partir de la célula totipotencial, llamada célula madre hematopoyética o progenitora, a partir de allí se originan todas las células sanguíneas: eritrocitos, leucocitos y plaquetas. ⁽¹⁾

Las plaquetas son células sanguíneas que proceden del megacariocito, célula que prolifera y madura en la médula ósea bajo la influencia de la trombopoyetina. La fragmentación de su citoplasma da nacimiento, a nivel del seno vascular a las plaquetas, que son células carentes de núcleo y no pueden replicarse. ⁽²⁾

Las plaquetas circulan en la sangre en forma de disco biconvexo (discocitos) de aproximadamente 3 μm de diámetro, un volumen (volumen medio plaquetario) de 8,3 a 11,6 fL y 10 pg de peso. Tienen una vida media en la sangre de 7 a 10 días y su concentración oscila entre 150.000 y 450.000 por μL . ⁽³⁾

El estudio de las células sanguíneas y los métodos para su evaluación han avanzado mucho, se han perfeccionado y simplificado las técnicas para su análisis, se han desarrollado nuevos métodos que permiten valorar los distintos parámetros que hoy son de gran utilidad en el diagnóstico de diversas patologías. ⁽⁴⁾

Fue a partir del descubrimiento patentado por Wallace Coulter (1956) que la compañía Coulter (Becken – Dickinson) lanzó el primer contador de células en los años 1978. Así, las células podían ser contadas con exactitud a medida que pasaban a través de esa zona sensible, siempre y cuando la misma fuera lo suficientemente pequeña como para hacer factible el recuento. ⁽⁵⁾

Los parámetros tales como el recuento de leucocitos y hematíes, la concentración de hemoglobina, o el volumen corpuscular medio (VCM), presentan por lo general un desempeño analítico excelente, en tanto que otros parámetros, tales

como componentes del diferencial leucocitario, reticulocitos o el recuento de plaquetas, especialmente a bajas concentraciones, evidencian un desempeño menos satisfactorio.⁽⁶⁾

En la actualidad, los contadores hematológicos han incrementado significativamente la capacidad de análisis y presentan amplios menús de determinaciones, elevada complejidad electrónico-mecánica y mayor productividad en el procesamiento de muestras. De este modo, se han convertido en una poderosa herramienta en la orientación diagnóstica y terapéutica de los trastornos hematológicos.⁽⁷⁾

La introducción de contadores hematológicos automatizados usando la tecnología de impedancia resultó en una mejora de la precisión, con un coeficiente de variación de menor al 3%, debido a que se hace un recuento más alto de plaquetas; sin embargo, a pesar de su amplio uso, aún tiene limitaciones significativas. Uno de los mayores problemas es que el análisis de medición celular no puede discriminar plaquetas de otras partículas de similar tamaño, como pequeños fragmentos de hematíes, complejos inmunes, entre otros; y será erróneamente incluido en el recuento, por tanto el número de partículas interferentes quizá podría exceder el número de verdaderas plaquetas.⁽⁸⁾

En relación con el recuento de células sanguíneas, los métodos manuales son la base de algunos métodos de referencia en el laboratorio hematológico, a los que aún es necesario recurrir cuando hay discrepancia con los métodos automatizados. Suelen también ser métodos de rutina en laboratorios pequeños de algunos países. Las plaquetas pueden contarse y clasificarse por tamaño con impedancia, la dispersión de la luz, una combinación de las dos y la citometría de flujo que usa la fluorescencia.⁽⁹⁾

Realizar el conteo plaquetario es indispensable en muchas patologías, siendo uno de los análisis más solicitados por los médicos de manera rutinaria; para ello, los laboratorios clínicos pueden utilizar métodos automatizados o manuales, estos últimos presentan la desventaja de requerir mucho tiempo y depender de la habilidad del analista; entre los métodos manuales, se encuentra el creado por Brécher y Cronkite en 1950, el cual se basa en la determinación de las plaquetas en una cámara de Neubauer, tras dilución de la sangre (1/100) con oxalato de amonio ($C_2H_8N_2O_4$) al 1% (lisis de eritrocitos), obteniendo así el número de plaquetas/l. ⁽¹⁰⁾

Según el Comité Internacional de Estandarización en Hematología (ICSH) de la OPS y OMS, los valores de referencia (Gold Standard), para los parámetros hematológicos son los métodos manuales. ⁽¹¹⁾

La determinación de la cifra de plaquetas de forma rutinaria en los recuentos automatizados actuales, ha permitido aumentar la detección de anomalías en el número de plaquetas en muchos pacientes. Se observan cifras elevadas o bajas, la mayoría de ellas sin ninguna repercusión clínica. Siempre se debe comprobar la cifra real de plaquetas en la extensión de sangre periférica, antes de considerar una trombocitopenia. Es necesario asegurar que no han existido problemas en la extracción y que no se ha formado un coágulo en la muestra. ⁽¹²⁾

Las ventajas al utilizar los equipos automatizados son la rapidez en el análisis, la sistematización y la calidad analítica. No obstante, es necesario que el usuario realice una evaluación para asegurar que los resultados producidos sean lo suficientemente confiables para ser utilizados en el cuidado de los pacientes. Esto requiere que los equipos sean totalmente calibrados y que el desempeño sea monitoreado tanto por controles de calidad interno y externo. ⁽¹³⁾

El laboratorio clínico es responsable de la calidad del hemograma y sobretodo que el recuento de plaquetas y los parámetros con ellas relacionados reflejen la realidad del estado de salud del paciente y que el médico encuentre en él las pruebas complementarias que requiera para un diagnóstico adecuado que lo lleve a la etiología de la misma ⁽¹⁴⁾

Así mismo, los parámetros plaquetarios pueden alterarse por interferencia de la morfología eritroide anormal, cuando se presenta un volumen corpuscular medio (VCM) bajo y una amplitud de distribución eritrocitaria aumentado. Esto se observa con la tecnología de impedancia eléctrica, la cual realiza la lectura de eritrocitos y plaquetas con el mismo principio; si la alteración de los eritrocitos es marcada, puede llevar a una inadecuada interpretación de los resultados del plaquetograma. ⁽¹⁵⁾

Si bien, en nuestro medio los analizadores hematológicos automatizados vienen teniendo gran aceptación, son los hospitales de Essalud así como algunos de centros de atención primaria que se vienen fortaleciendo con la automatización en el laboratorio clínico, en cuanto al recuento de plaquetas se recurre a procedimientos indirectos de lectura del frotis sanguíneo para ser contrastados con recuentos automatizados cuando las alarmas indican conteos bajos, en parte se debe a la gran demanda de muestras, no siendo ésta la técnica ideal de recuento, debido a que solo nos guiará en la observación del tamaño plaquetario y en la estimación cuantitativa. El recuento plaquetario es muy importante en el seguimiento de la evolución de cuadros clínicos como en el seguimiento de patologías renales y sobre todo en pacientes que son sometidos a diálisis; de ahí la importancia de su conteo, ya sea empleando técnicas automáticas o manuales validadas y estandarizadas que proporcionen datos precisos y exactos a ser tomados por el médico para acercarse al diagnóstico o seguir el tratamiento y control de la patología.

1.2 Formulación del Problema:

1.2.1 Problema General:

¿Cuál es la concordancia del recuento de plaquetas por método manual y automatizado en el paciente nefrológico atendido en el Hospital Víctor Lazarte Echegaray-Trujillo, 2015?

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo general.

Determinar la concordancia del recuento de plaquetas por método manual y automatizado en el paciente nefrológico atendido en el Hospital Víctor Lazarte Echegaray- Trujillo, 2015.

1.3.2 Objetivos específicos.

OE1. Analizar el recuento de plaquetas por método manual en el paciente nefrológico atendido en el Hospital Víctor Lazarte Echegaray-Trujillo, 2015.

OE2. Analizar el recuento de plaquetas por método automatizado en el paciente nefrológico atendido en el Hospital Víctor Lazarte Echegaray – Trujillo, 2015.

OE3. Comparar el recuento de plaquetas por método manual y automatizado en el paciente nefrológico atendido en el Hospital Víctor Lazarte Echegaray-Trujillo, 2015.

1.4 Justificación e importancia de la investigación.

Uno de los principales objetivos de cualquier laboratorio clínico es proporcionar información precisa, exacta y oportuna que garantice la calidad y el servicio deseado, si bien la automatización constituye una solución para muchos laboratorios por la rapidez de los resultados, las técnicas manuales siguen siendo muy útiles como ayuda diagnóstica al especialista.

En nuestros días es común, encontrar pacientes con diversas patologías en centros médicos de primer nivel de atención así como en hospitales de mayor complejidad, en las cuales el hemograma y el recuento de plaquetas son solicitados muy a menudo en el diagnóstico o seguimiento de enfermedades.

Un método de recuento de plaquetas es el realizado en cámara de Neubauer; hoy en día dejado de lado por el boom de la automatización; la mayoría de los centros y puestos de salud públicos que no cuentan con la automatización emplean métodos indirectos de recuento plaquetario que son útiles para aproximar la numeración mas no es la metodología ideal; justificándose su uso en el tiempo de obtención del resultados, sin embargo la metodología manual en cámara de Neubauer cuenta con sólidas bases científicas y sobre las cuales se basó el desarrollo de los equipos hematológicos automatizados.

En nuestro medio existe escasa información de estudios comparativos de métodos de recuento de plaquetas, es así que el presente estudio pretende hacer una comparación entre el método manual y el método automatizado de la variable plaquetaria a fin de determinar la concordancia entre ambos métodos teniendo como población objetivo a los pacientes del servicio de Nefrología del Hospital Víctor Lazarte Echegaray. Actualmente los pacientes afectados con patología renales van en incremento que en muchos de los casos tienen que acceder a tratamientos sustitutivos a lo largo de su vida pasando por distintas modalidades terapéuticas, en las cuales la cuantificación de las plaquetas puede verse alterada. La investigación podrá ser de utilidad como una herramienta alternativa al profesional que no cuenten con equipos hematológicos automatizados y puedan emplear la metodología manual con la total seguridad que los resultados plaquetarios que se obtengan sean fiables y de mucha utilidad para el profesional médico y que permita una correcta interpretación clínica.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Bases Teóricas:

2.1.1 Plaquetas

Las plaquetas son células sanguíneas que proceden del megacariocito, célula que prolifera y madura en la médula ósea bajo la influencia de la trombopoyetina. La fragmentación de su citoplasma da nacimiento, a nivel del seno vascular a las plaquetas, que son células que carecen de núcleo y no pueden replicarse ⁽²⁾

Las plaquetas son fragmentos del citoplasma de una célula de médula ósea muy grande, el megacariocito. Tienen forma de disco en su forma inactiva y miden dos a cuatro micrómetros de diámetro. La cuenta plaquetaria en humanos varía en un rango normal de 150 a 400×10^9 /l. La vida media de las plaquetas es de 7 a 14 días y para mantener los valores normales en sangre se producen aproximadamente 1×10^{11} plaquetas diariamente en médula ósea. ⁽³⁾

2.1.2 Recuento de plaquetas

2.1.2.1 Método de recuento automatizado

La mayoría de los analizadores hematológicos actuales disponen de la incorporación de ordenadores o microprocesadores que automáticamente o mediante una mínima interacción con el operador, dirigen y controlan el funcionamiento armónico entre todos los componentes del sistema, procesan las señales ofrecidas por los sistemas de detección, garantizan la rapidez de procesamiento, el control de calidad y la confección de listas de trabajo. Las fallas durante el procesamiento son generalmente indicadas mediante mensajes en pantalla o a través de una señal visual o sonora. ⁽⁷⁾

Tanto el método óptico como la impedancia han permitido investigar diversos interferentes en el recuento plaquetario, como es el caso de la agregación plaquetaria,

posteriormente, en la década de los noventa, los marcadores inmunológicos fueron utilizados, los cuales reconocían antígenos específicos de la superficie de las plaquetas que permitieron la identificación de plaquetas por Citometría de Flujo. ⁽⁸⁾

2.1.2.1.1 Método por Citometría de Flujo

En la técnica de Citometría de flujo las células en suspensión se hacen pasar alineadamente una a una, por delante de un haz de luz láser monocromático, lo que causa su dispersión en diversos ángulos y la emisión de energía fluorescente, previo marcaje de las estructuras celulares con anticuerpos monoclonales acoplados a fluorocromos. La utilización de una fuente de luz láser, generalmente de argón, ofrece un rayo monocromático más intenso, más colimado y capaz de inducir la excitación de ciertos compuestos (fluorocromos) con la consecuente inducción de la señal fluorescente, lo que garantiza una medición fotométrica más exacta. ⁽⁷⁾

La interacción de haz láser con cada célula marcada produce 2 tipos de señales: de dispersión y de fluorescencia. Para su detección, las señales de dispersión se dividen en 2 fracciones: fracción dispersa ángulo estrecho ($0-10^0$) hacia adelante o Forward Scatter (FSC), y fracción dispersa en ángulo de 90^0 con respecto al haz incidente o Side Scatter (SSC), las que serán recogidas por 2 detectores de dispersión colocados al efecto. ⁽⁷⁾

Las señales de fluorescencia serán recogidas por 3 detectores de fluorescencia en equipos de un solo láser y por un cuarto detector en equipos de 2 láseres. La posibilidad de utilizar varios detectores para la recogida de las señales ofrecidas por la fuente de luz láser al interactuar con cada célula, proporciona al unísono 2 parámetros de dispersión y 3, e incluso 4, de fluorescencia (FI1, FI2 y FI3) por cada célula analizada. ^(7,11)

La cuantificación de las plaquetas con los instrumentos automatizados incluye el recuento, la evaluación de su morfología a través del volumen plaquetario medio (VPM), y el ancho de distribución plaquetaria (ADP). Estos parámetros se obtienen al resuspender las células en una solución isotónica, y al pasar éstas por la apertura del instrumento, originan un cambio de voltaje proporcional a su volumen. A partir de histogramas se obtiene el VPM. Además, se utilizan relaciones matemáticas para obtener otros parámetros como, el plaquetocrito (PCT), producto del valor del volumen plaquetario medio (VPM) y el recuento plaquetas. ^(7,8)

2.1.2.1.2 Medición de la cantidad de luz dispersada (método óptico)

Las células en suspensión se hacen pasar alineadamente una detrás de otra, a través de una pequeña zona sobre la que incide perpendicularmente un haz de luz halógena o láser, lo que provoca la interrupción y dispersión lumínica de la energía radiante en diversos ángulos. El número de interacciones del haz de luz se corresponde con la cantidad de células que pasan por la zona de sensible del aparato y la magnitud de su dispersión será una función de distintas propiedades o características celulares, dentro de las que pueden citarse el volumen celular, el tamaño, el contorno y el índice de refracción que constituye una función del contenido celular. ⁽⁷⁾

Para la detección de la luz dispersa se utilizan varios detectores colocados en diversos ángulos con respecto al haz incidente. La fracción luz dispersada en un ángulo cónico entre $0-10^0$, que casi coincide con la dirección del haz incidente, será proporcional al volumen celular. Por otro lado, la fracción de luz dispersada perpendicularmente con respecto al haz incidente, será una función de la complejidad de la estructura intracelular. ⁽⁷⁾

2.1.2.1.3 Método por impedancia eléctrica (Principio de Coulter)

Las células de una muestra de sangre total diluida en una solución electrolítica se hacen pasar, una detrás de la otra, a través de una abertura de determinado diámetro, por la que circula una corriente eléctrica de cierta intensidad inducida por 2 electrodos dispuestos a ambos lados de la abertura u orificio. Al pasar cada célula a través del orificio causa un cambio en la resistencia eléctrica que genera un pulso de voltaje cuya altura o amplitud será proporcional al tamaño o volumen de la célula. El número de pulsos eléctricos generados se relaciona con la cantidad de células que atraviesan la abertura. En la actualidad, este principio se aplica como método de referencia para el recuento celular hemático y la medición de los volúmenes (tamaño) de cada población celular. ^(8,11)

2.1.2.2 Método directo en cámara de Neubauer

Consiste en el uso de sangre completa anticoagulada con EDTA. La sangre es diluida en oxalato de amonio 1%, los hematíes son lisados pero las plaquetas y los glóbulos blancos permanecen intactos. ⁽⁸⁾

Diluir 20 ul de sangre total en 380ml (400 ul) de diluyente o 100ul de sangre en 1.9 ml de diluyente para un tubo de hemólisis (dilución 1:20), tener cuidado de limpiar la parte externa de la punta con papel absorbente para solo entonces mezclar por aspiración y dilución la sangre en el diluyente, llenar el hemocitómetro de Neubauer y colocarlo en reposo por 20 minutos en cámara húmeda (depósito cerrado en el que se coloca en el interior un copo de algodón embebido en agua); hacer lectura, en microscopio óptico común en aumento 400X; determinar el número de plaquetas observadas en los cinco cuadrados del cuadrante central del retículo. ⁽¹⁶⁾

2.1.2.3 Método indirecto en lámina

Se realiza el recuento del número de plaquetas en 10 campos que corresponden a un área del frotis donde los eritrocitos apenas se toquen. El número de plaquetas se multiplican por 20,000 para obtener un número estimativo del total de plaquetas presentes en la muestra. Este número estimativo se considera adecuado si coincide con el recuento normal de plaquetas. ⁽¹⁷⁾

2.1.3 Interpretación de resultados

- Valor normal: 150,000 – 450,000 x mm³
- Recuento Alto: para valores superiores a 450,000 plaquetas por mm³ de sangre.
- Recuento bajo: para valores inferiores a 150,000 plaquetas por mm³ de sangre.

2.2. Antecedentes de la investigación

Osta V., Segura C., Tissera G, Ayuso C. en el año 2014, realizaron un estudio de eficiencia y sensibilidad de alarmas de dos analizadores hematológicos en un hospital pediátrico, se procesaron 178 muestras seleccionadas de la carga de trabajo diario del Laboratorio en ambos contadores, se analizaron los reportes emitidos y se realizó el diferencial manual encontrando una excelente concordancia entre los dos instrumentos para el recuento de leucocitos, eritrocitos, hemoglobina, volumen corpuscular medio y plaquetas; entre el diferencial manual y el reportado por ambos equipos, la tasa de falsos negativos fue de 3.4% y 4.0% respectivamente. La tasa de falsos positivos en ambos equipos fue de 17%. Se puede concluir que los analizadores evaluados presentan un desempeño comparable. ⁽⁶⁾

Congona R., en el año 2011, publica un estudio de investigación sobre los interferentes en el recuento plaquetario en pacientes hemato-oncológicos mediante el principio de impedancia y recuento óptico/fluorescente en el analizador SYSMEX XE-2100 FULL, se analizaron 232 muestras de personas sanas y 1304 muestras

patológicas, se formaron subgrupos de muestras patológicas que tengan un interferente en particular, y realizar el análisis en cada uno de estos sub grupos, concluyendo que en presencia de los interferentes evaluados, el recuento plaquetario obtenido por las dos metodologías del SYSMEX 2100 XE se ha visto claramente influenciado por los interferentes como fragmentos de hematíes, microcitos, agregados plaquetarios. ⁽⁸⁾

Zabala N. en el año 2014, realizó un estudio de comparación del conteo plaquetario, empleando diferentes metodologías, en pacientes con púrpura trombocitopenia y síndromes mielodisplásicos, provenientes de la consulta de hematología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” de la ciudad de Cumaná. Los pacientes fueron de ambos sexos, con edades comprendidas entre 15 y 50 años, ya diagnosticados con dichas enfermedades. Concluyendo que el recuento de plaquetas por el método manual en pacientes con trombocitopenia y síndromes mielodisplásicos, arrojó una correlación positiva y una diferencia significativa ($p < 0,05$), al compararlo con la metodología automatizada, pudiéndose aceptar los valores por estos métodos como válidos según los resultados obtenidos. ⁽¹⁰⁾

Calheiros L., Silva N., Soares M. en el año 2007, realizaron un estudio de comparación entre el método manual y automatizado. Entre las 99 muestras evaluadas por el método manual de Fonio, 92 fueron confirmados con el método automatizado, 6 tenían trombocitopenia por la automatización, 6 tenían trombocitopenia por método manual. El análisis de los datos nos lleva a afirmar que los desacuerdos de algunos resultados no son significativo para asegurar que los resultados obtenidos por el método automatizado no confirman los resultados encontrados cuando se utiliza el método indirecto. ⁽¹⁸⁾

3. METODOLOGÍA

3.1. Tipo de estudio

El presente estudio es de tipo descriptivo

3.2. Diseño del Estudio

El presente estudio es de diseño no experimental de tipo transversal.

3.3. Población:

Estuvo conformada por 251 muestras sanguíneas de pacientes del servicio de Nefrología del Hospital Víctor Lazarte, de la ciudad de Trujillo, que ingresaron en el mes de octubre del 2015.

3.4. Muestra

Estuvo conformada por 204 muestras sanguíneas que cumplieron los criterios de inclusión, y provienen de pacientes del servicio de Nefrología del Hospital Víctor Lazarte Echeagaray de Trujillo.

Para la obtención de la muestra se utilizó la siguiente fórmula:

$$m = \frac{Z^2 \times P \times Q \times N}{N \times E^2 + Z^2 \times P \times Q}$$

Donde:

m = tamaño ideal de la muestra

Z = valor asociado a un nivel de confianza

P = variable estimada

E = error de muestreo

N = tamaño del universo muestral

Se consideró:

- Nivel de confianza al 95 %, Z = 1.96
- P = 0.5
- Q = 0.5
- E = 0.03
- N = 251

Aplicamos la fórmula:

- $m = \frac{(1.96)^2 (0.5)(0.5) (251)}{(251) (0.03)^2 + (1.96)^2 (0.5) (0.5)}$
- $m = \frac{(3.84) (0.25) (252)}{0,22+0,96}$
- $m = \frac{240.9}{1.18}$
- $m = 204$
- **Por lo tanto:** $m = 204$ muestras sujetas a estudio

3.4.1 Criterios de Inclusión:

- Muestras sanguíneas con menos de 4 horas de haber sido extraídas a pacientes provenientes del servicio de nefrología del Hospital Víctor Lazarte de cualquier edad y de ambos sexos.
- Muestras recolectadas en tubos BD vacutainer con EDTA K2

3.4.2 Criterios de Exclusión:

- Muestras con volumen sanguíneo incorrecto en tubos BD vacutainer con EDTA K2.
- Muestras sanguíneas que presenten coágulos en tubo vacutainer con EDTA K2.

3.5. Operacionalización de Variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES
<p>Recuento de plaquetas por método manual y método automatizado.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - El recuento manual por método manual es la determinación directa de las plaquetas en un hemocitometro, después de la dilución de la sangre total en solución hipotónica para lisar los eritrocitos y obtener el número de plaquetas por mm³ de sangre. - El recuento de plaquetas por método automatizado es el conteo celular realizado por un equipo electrónico en la cual no interviene el factor humano pero requiere de controles de calidad internos y externos para validar los resultados. 	<p>Se cuantificará empleando la cámara de Neubauer Mariefeld.</p> <p>Se cuantificará empleando el analizador hematológico automatizado Mindray BC-6800.</p>	<p>Recuento manual de plaquetas</p> <p>Recuento automatizado de plaquetas</p>	<p>Valor Absoluto (manual)</p> <p>Valor absoluto (automatizado)</p>

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIÓN	INDICADOR								
<p>Concordancia del método de recuento de plaquetas.</p>	<p>- La concordancia evalúa si las diferentes técnicas empleadas producen resultados similares cuando se aplican al mismo sujeto y en forma simultánea o con mínimas diferencias de tiempo que garanticen ausencia de variabilidad y condiciones muy similares.</p>	<p>Se logra determinar el valor absoluto de la cantidad de plaquetas por mm³ de sangre.</p>	<p>Fuerza de la concordancia.</p>	<table> <tr> <td>> 0,99</td> <td>Casi perfecta</td> </tr> <tr> <td>0.95 – 0.99</td> <td>Sustancial</td> </tr> <tr> <td>0.90 – 0.95</td> <td>Moderada</td> </tr> <tr> <td>< 0,90</td> <td>Pobre</td> </tr> </table>	> 0,99	Casi perfecta	0.95 – 0.99	Sustancial	0.90 – 0.95	Moderada	< 0,90	Pobre
> 0,99	Casi perfecta											
0.95 – 0.99	Sustancial											
0.90 – 0.95	Moderada											
< 0,90	Pobre											

3.6. Procedimientos y Técnicas:

-) Se solicitó permiso al Jefe de laboratorio del Hospital Víctor Lazarte Echegaray de Trujillo, para la realización del estudio de investigación.
-) Se procedió a la búsqueda de registros de muestras de pacientes del consultorio de nefrología en la base de datos del laboratorio de hematología.
-) Se seleccionó las muestras por el método aleatorio simple
-) Se procedió a recolectar las muestras sanguíneas luego de haber sido procesadas en el trabajo rutinario en el servicio de hematología.
-) Se procedió a realizar el recuento plaquetario por el método manual.
-) Los resultados del recuento plaquetario por el método manual fueron analizados junto a los resultados reportados por el analizador automatizado.
-) Luego se procesó estadísticamente los resultados encontrados por ambas metodologías de recuento.

3.7. Plan de Análisis de Datos:

Los datos serán analizados mediante el programa estadísticos SPSS versión 22. Se determinó medidas de tendencia central. El método estadístico empleado por tratarse de una variable cuantitativa fue el coeficiente de correlación de concordancia de Lin (CCC) y el método gráfico de Bland – Altman.

Este coeficiente califica la fuerza del acuerdo de una forma más exigente para variables continuas, la valora como casi perfecta para valores mayores a 0,99; sustancial de 0,95 a 0,99; moderada de 0,90 a 0,95 y pobre cuando está por debajo de 0,90. ⁽¹⁹⁾

La fórmula del CCC de Lin es la siguiente:

$$\rho_c = \frac{2s_{xy}}{s_x^2 + s_y^2 + (\bar{x} - \bar{y})^2}$$

4. RESULTADOS ESTADÍSTICOS

4.1. RESULTADOS

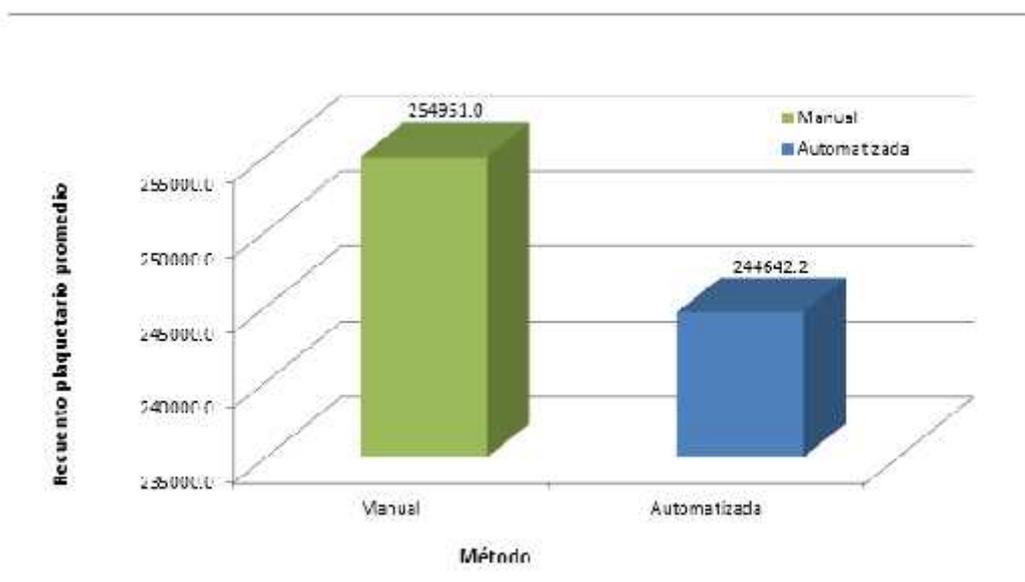
ANÁLISIS COMPARATIVO DEL MÉTODO MANUAL Y AUTOMATIZADO

Tabla N° 1: Análisis del recuento plaquetario

Método	n	Promedio	Desv. típica	Dif. Promedios
Manual	204	254951.0	76676.3	10308.8
Automatizada	204	244642.2	67990.1	

Fuente: Análisis clínico de pacientes nefrológico atendidos en el Hospital Víctor Lazarte – Trujillo 2015

En la tabla N°1 se presenta que el tamaño muestral estuvo conformada por 204 muestras sanguíneas de pacientes del servicio de nefrología del Hospital Víctor Lazarte y que fueron procesadas por método manual y método automatizado, con una desviación típica de 76667.3 y 67990.1 respectivamente y un promedio de 254951.0 para el método manual y 244642.0 para el método automatizado.



Fuente: Tabla 01

Figura N°1: Recuento plaquetario promedio según método

En la figura N°1 se evidencia que el recuento plaquetario promedio es mayor con el método manual ($254\ 951 \pm 76\ 676.3$) que con el método automatizado ($244\ 642,2 \pm 67\ 990.1$) en aproximadamente 10,308.8 plaquetas.

CONCORDANCIA DE METODO MANUAL Y AUTOMATIZADO

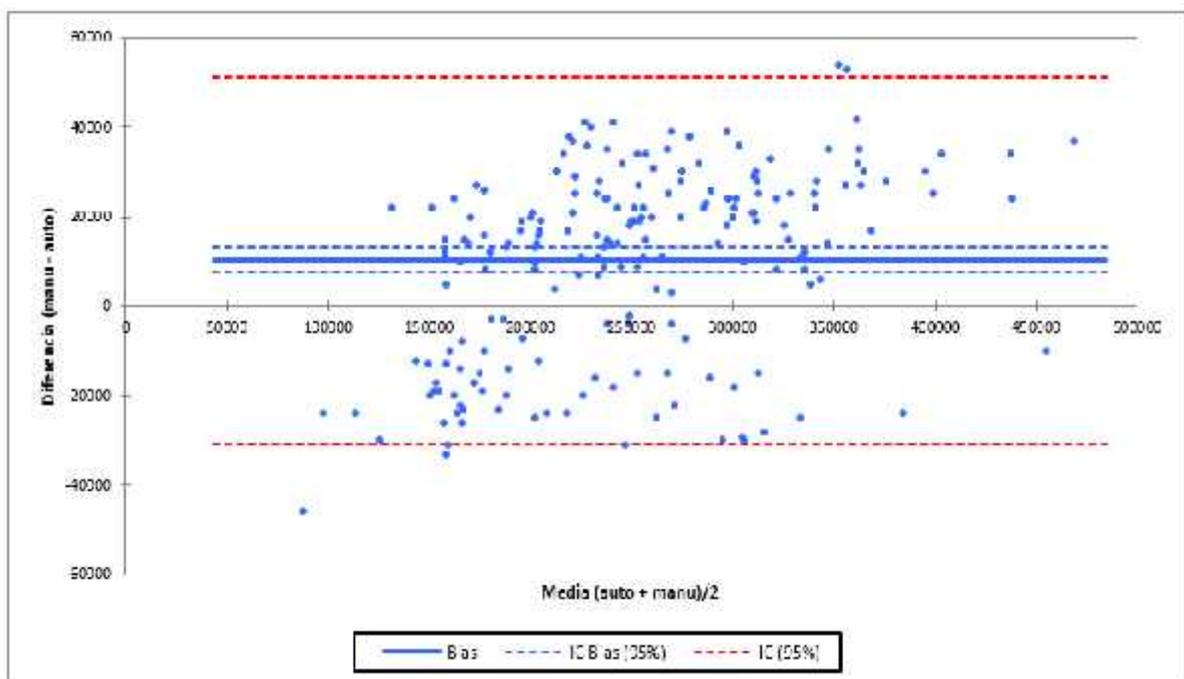
Tabla N°2: Comparación del recuento plaquetas entre el método manual y método automatizado

Coeficiente de Concordancia Lin	I.C. 95%		Grado de concordancia
	Lím. Inf.	Lím. Sup.	
0.9486	0.943	0.960	Moderado

Fuente: Análisis clínico de pacientes nefrológico atendidos en el Hospital Victor Lazarte – Trujillo 2015

La tabla N°2, muestra la concordancia moderada entre los métodos manual y automatizado al realizar el recuento plaquetario.

ANALISIS SEGÚN GRAFICO DE BLAND - ALTMAN



Fuente: Análisis clínico de pacientes nefrológicos atendidos en el HVL, Trujillo 2015

Figura N°2: Gráfico de Bland - Altman del recuento plaquetario entre el método manual y método automatizado

En la figura N°2, se analiza la concordancia del recuento plaquetario por el método gráfico de Bland- Altman, en el cual podemos notar un gran porcentaje de observaciones que se encuentran dentro del intervalo de confianza de la diferencia de medias plaquetarias entre ambos métodos, observándose una concordancia moderada que se correlaciona con el análisis estadístico de concordancia de Lin, sin embargo para que exista una elevada concordancia los valores deben ser más cercanos a una diferencia 0, lo que no cumple en su totalidad.

4.2. Discusiones de Resultados

La determinación de la cifra de plaquetas de forma rutinaria en los recuentos automatizados actuales, ha permitido aumentar la detección de anomalías en el número de plaquetas en muchos pacientes. ⁽¹²⁾ Los recuentos plaquetarios en pacientes del servicio de nefrología, cursan mayormente con valores dentro de los parámetros normales, son pocos los casos en las cuales llegan a tener un recuento por debajo de los valores normales.

Según la bibliografía revisada es muy escasa la investigación producida respecto a la comparación de métodos de recuentos de plaquetas entre la metodología manual en cámara de Neubauer y el método automatizado; por lo tanto el presente trabajo tiene por objetivo determinar la concordancia entre ambos métodos.

Osta, Segura, Tissera y Ayuso ⁽⁶⁾ en su estudio acerca de la eficiencia y sensibilidad de alarmas de dos analizadores hematológicos dan cuenta que los analizadores evaluados presentan un desempeño comparable. Un aspecto importante de las diferencias analíticas entre equipos automatizados es el tipo de principio metodológico que emplean al realizar el recuento de plaquetas.

En nuestro caso el estudio tuvo por objetivo comparar un método de recuento manual y un método de recuento automatizado, los resultados hallados según la tabla de valoración de Lin, la concordancia se encuentra en un rango moderado (0.94), posiblemente el método tradicional manual dependa en gran medida del adiestramiento del operador y de la fase pre analítica de la muestra, sin embargo cuando el analizador automatizado lanza alarmas de parámetros que no estén dentro de los valores normales, el analista deberá obligatoriamente cotejar el dato recurriendo a las técnicas tradicionales manuales a fin de corroborar el resultado.

Congona ⁽⁸⁾ publicó un estudio de investigación sobre los interferentes en el recuento plaquetario en pacientes hemato-oncológicos mediante el principio de impedancia y recuento óptico/fluorescente en el analizador SYSMEX XE-2100 FULL, concluyendo que en presencia de los interferentes evaluados, el recuento plaquetario obtenido por las dos metodologías del SYSMEX 2100 XE se vio claramente influenciado por los interferentes como fragmentos de hematíes, microcitos, agregados plaquetarios.

En el presente estudio realizado podemos afirmar que si bien podemos hallar interferentes que puedan ser incluidos en la lectura y esto pueda aumentar el conteo final, es vital la fase pre analítica del proceso y el adiestramiento del analista para poder discriminar que células incluir en el conteo; nuestra investigación comparó el recuento en cámara de Neubauer frente al analizador MINDARY BC-6800, dotado con el principio de impedancia de flujo envolvente que busca minimizar los interferentes, probablemente nuestra investigación de recuento manual no estuvo exento de estos interferentes, sin embargo en la evaluación final se obtuvo un moderado acuerdo entre ambas metodologías de recuento.

Zabala ⁽¹⁰⁾, realizó un estudio de comparación del contaje plaquetario, empleando diferentes metodologías, en pacientes con púrpura trombocitopenia y síndromes mielodisplásicos, concluyendo que el recuento de plaquetas por el método manual, arrojó una correlación positiva al compararlo con la metodología automatizada.

Indudablemente ante las mejoras tecnológicas de los analizadores automatizados lo que se busca es disminuir las posibles interferencias que puedan presentarse en el recuento plaquetario; en la investigación realizada solo hemos comparado 2 tipos de metodología de recuento en dos instrumentos de medición, el análisis estadístico empleado arrojó una concordancia moderada para el estudio en

muestras de pacientes del servicio de nefrología, probablemente el grado de acuerdo entre ambas metodologías hubiese sido más distante si los sujetos de estudio fueran oncológicos, por las limitaciones tecnológicas del instrumento para eliminar los interferentes celulares y otras partículas.

Calheiros, Silva y Soares ⁽¹⁸⁾, realizaron un estudio de comparación del recuento de plaquetas entre el método manual y el método automatizado. Empleando para el primero la metodología indirecta por microscopia observando las plaquetas en el extendido sanguíneo, concluyendo que los desacuerdos de algunos resultados no son significativos por lo que el método de recuento de plaquetas indirecto puede ser utilizado.

En nuestro caso, la investigación utilizó el método directo con el uso de la cámara de Neubauer y oxalato de amonio al 1% como solución diluyente, los resultados encontrados fueron cotejados con los reportes del equipo automatizado MINDRYA BC 6800, que al someterlo a la prueba estadística para evaluar concordancia se obtuvo un resultado de categoría moderada. Es por ello que consideramos que el método directo en cámara de Neubauer a pesar de no ser muy utilizado o haber dejado de ser el método de referencia, aún es una herramienta útil en laboratorios pequeños o en donde se procesan pocas cantidades de muestras y no hay implementación con analizadores hematológicos automatizados.

Los resultados de nuestro estudio demuestran que la concordancia encontrada es moderada (0.94 según la escala de concordancia de Lin) de igual modo al analizar el gráfico de Bland - Altman confirma el resultado de la concordancia, lo que nos lleva a aseverar que el recuento manual sigue siendo útil, dependerá en gran medida de la pericia del analista. Respecto al recuento automatizado éste ofrece mejoras porque además del recuento plaquetario nos proporciona otros parámetros como el volumen

plaquetario medio, ancho de la distribución plaquetario, plaquetocrito, recuento de plaquetas grandes y pequeñas, útiles para el diagnóstico o seguimiento de las patologías.

4.3. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados del estudio de concordancia entre métodos de recuento plaquetario, se obtuvo un resultado de 0.94, que según la escala de valoración del coeficiente de concordancia de Lin es equivalente a una concordancia moderada.

4.4. RECOMENDACIONES

1. Teniendo en cuenta que el método de referencia de las pruebas hematológicas es el método tradicional manual, y sobre esta base se ha desarrollado las metodologías de los equipos automatizados, se recomienda no dejar de lado, la verificación de resultados por el método manual.
2. En futuros estudios de investigación, podrían incluirse la técnica indirecta de recuento plaquetario a fin de comparar el rendimiento de las técnicas manuales y automatizada sabiendo que actualmente la técnica indirecta es empleada cotidianamente para la contrastación de los reportes automatizados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jaime J, Gómez D. La Sangre y sus derivados. 2ª ed. México: McGraw-Hill. 2005.
2. Schwartz, A. Martínez- Sánchez, G. Re, L. (2011). Factores de crecimiento derivados de plaquetas y sus aplicaciones en medicina regenerativa. Potencialidades del uso del ozono como activador. Revista Española de Ozonoterapia. Vol.1, nº 1, pp. 54-73.
3. Campuzano-Maya G. Utilidad clínica del extendido de sangre periférica: las plaquetas. Medicina & Laboratorio 2008, 14: 511-531
4. Aponte N. Rendimiento diagnóstico de los índices plaquetarios en trombocitopenia (tesis). Bogotá. (Colombia): Universidad Nacional de Colombia.43p.
5. Fink N., Automatización en Hematología.2005. vol. 9 N° 1: 4-16
6. Osta V, Segura C, Tissera G, Ayuso C. Estudio de eficiencia y sensibilidad de alarmas de dos analizadores hematológicos en un hospital pediátrico. Argentina. Acta Bioquím Clín Latinoam 2014; 48 (1): 71-9.
7. Hernández-Reyes L. Avances y aplicación clínica de la Citometría hemática automatizada. Revista Cubana Hematología, Inmunología y Hemoterapia. 2013; 29 (1):24-39.
8. Congona R. Influencia de interferentes en el recuento plaquetario en pacientes hemato-oncológicos mediante el principio de impedancia y recuento óptico/fluorescente en el analizador sysmex xe-2100 full (tesis). Lima (Perú): Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2011.106p.
9. Crocker J, Burnett D. La ciencia en el diagnóstico de laboratorio. 2ª ed. México. McGraw-Hill Interamericana editores.2005.

10. Zavala N. Comparación del contaje plaquetario empleando diferentes metodologías, en pacientes con purpura trombocitopenica y síndromes mielodisplasicos (tesis).Cumana (Venezuela): Universidad del Oriente; 2012. 45p.
11. Ormachea P, Callisaya J, Salcedo L. Evaluación del Hemocitómetro Max 740 en la determinación de parámetros hematológicos. Bolivia. BIOFARBO, 19(1), Junio 2011, 64 – 67.
12. Astigarraga I. Actualización sobre trombocitopenias y trombocitopenia inmune primaria. España. Bol. S Vasco-Nav Pediatr 2012; 44: 19-24.
13. Chávez-Almazán L, López-Silva S, Barlandas-Rendón E, Armenta-Solís A. Evaluación del desempeño analítico del equipo hematológico Medonic CA 530 Thor. Medigraphic artemisa. Volumen 34 No. 2 Abril-Junio 2009. p. 69-76.
14. Campuzano G. Evaluación del paciente con trombocitopenia. Medicina & Laboratorio, Volumen 13, números 9-10, 2007.
15. Patricia E. Arbeláez J, Acevedo P. Interferencia de las alteraciones morfológicas de los eritrocitos en el plaquetograma en pacientes con anemia de volumen corpuscular medio bajo, hospitalizados en la IPS de la Universidad de Antioquia, sede clínica León XIII. Univ. Méd. ISSN 0041-9095. Bogotá (Colombia), 54 (4): 443-460, octubre-diciembre, 2013.
16. Gomes R. Hemograma: como hacer e interpretar. Edición 2011. Editorial Amolca. 2011.
17. Carr - Rodak. Atlas de Hematología clínica. 3ª ed. España. Editorial Médica Panamericana. 2010.
18. Calheiros L., Silva N., Soares M. Comparación entre el Contaje de Plaquetas por los Métodos Manual Automatizado. (Brasil). NewsLab. Edición 81-2007.

19. Cortés-Reyes E, Rubio-Romero J, Gaitán-Duarte H. Métodos estadísticos de evaluación de la concordancia y la reproducibilidad de pruebas diagnósticas. Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología Vol. 61 No. 3-2010.(247-255).

ANEXOS

Anexo N°1: Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	VARIABLES	DIMENSIÓN	INDICADOR
General ¿Cuál es la concordancia del recuento de plaquetas por método manual y automatizado en el paciente nefrológico atendido en el Hospital Víctor Lazarte Echegaray-Trujillo, 2015?	General) Determinar la concordancia del recuento de plaquetas por método y automatizado en el paciente nefrológico atendido en el Hospital Víctor Lazarte Echegaray-Trujillo, 2015.	Recuento de plaquetas por método manual y método automatizado.	Recuento manual de plaquetas.	Valor absoluto (método manual)
	Específicos) Analizar el recuento de plaquetas por método manual en el paciente nefrológico atendido en el Hospital Víctor Lazarte Echegaray-Trujillo, 2015.) Analizar el recuento de plaquetas por método automatizado en el paciente nefrológico atendido en el Hospital Víctor Lazarte Echegaray-Trujillo, 2015.) Comparar el recuento plaquetas por método manual y automatizado en el paciente nefrológico atendido en el Hospital Víctor Lazarte Echegaray-Trujillo, 2015		Recuento automatizado de plaquetas.	Valor absoluto (método automatizado)
		Concordancia de métodos de recuento de plaquetas manual y automatizado.	Fuerza de la concordancia entre métodos de recuento.	> 0,99 Casi perfecta 0.95 – 0.99 Sustancial 0.90 – 0.95 Moderada < 0,90 Pobre

Anexo N°2



