



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA  
SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**“COMPARACIÓN ENTRE LOS MÉTODOS DE  
IMPEDANCIA Y FLUORESCENCIA PARA EL  
RECUENTO DE PLAQUETAS EN PACIENTES CON  
TROMBOCITOPENIA DEL HOSPITAL NACIONAL DOS  
DE MAYO, LIMA 2018”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE LICENCIADO  
TECNÓLOGO MÉDICO EN EL ÁREA DE LABORATORIO  
CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**AUTOR:**

**Bach. ALVAREZ DIESTRA CARLOS ALBERTO**

**ASESOR:**

**ZARZOSA NORABUENA EDWIN AGUSTIN**

**Lima, Perú**

**2018**

# HOJA DE APROBACIÓN

**BACHILLER:** ALVAREZ DIESTRA CARLOS ALBERTO

“COMPARACION ENTRE LOS METODOS DE  
IMPEDANCIA Y FLUORESCENCIA PARA EL RECuento  
DE PLAQUETAS EN PACIENTES CON  
TROMBOCITOPENIA DEL HOSPITAL NACIONAL DOS DE  
MAYO, LIMA 2018”

Esta tesis fue evaluada y aprobada para la obtención del Título de  
Licenciado en Tecnología Médica en el área de Laboratorio  
Clínico y Anatomía Patológica por la Universidad Alas Peruanas

---

---

---

LIMA – PERÚ

2018

## **DEDICATORIA**

Este trabajo está dedicado a mis padres que me enseñaron que todo se logra con trabajo y mucha dedicación.

A mi esposa Viviana por su apoyo incondicional tanto en lo familiar como laboral.

A mis hijos: Ángeles Belén y Carlos Aarón porque son mi mayor motivación para nunca rendirme.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Lic. Edwin Zarzosa Norabuena, por su apoyo incondicional durante todo el proceso del trabajo de investigación.

A la Dra. Luz Huaroto Valdivia y Dra. Yamit Soto Gómez por las facilidades para realizar el trabajo en el área de Hematología del laboratorio del Hospital Nacional Dos de Mayo.

## **EPÍGRAFE**

Los laboratorios clínicos enfrentan retos que eran desconocidos hace pocos años, por el flujo de trabajo se hace necesario contar con tecnologías sofisticadas que permitan informar con precisión los parámetros de gran importancia clínica como es el caso del recuento de plaquetas

## RESUMEN

**Objetivo:** Comparar el recuento de plaquetas mediante los métodos de impedancia y fluorescencia, en pacientes con trombocitopenia del Hospital Nacional Dos de Mayo, Lima 2018.

**Material y Métodos:** Estudio comparativo, descriptivo, retrospectivo de corte transversal. Se realizó en el Hospital Nacional Dos de Mayo, en el área de hematología del departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica, para efectuar la comparación entre el método impedancia y fluorescencia en pacientes con trombocitopenia, para este estudio utilizó el equipo Hematológico XN 1000 Sysmex.

**Población:** Pacientes adultos de ambos sexos procedentes de emergencia, hospitalizados y uci, en el periodo de 15 de enero al 31 de mayo del 2018.

**Muestra:** El tamaño de la muestra fue de 332 pacientes

**Resultados:** nuestro estudio demuestra que hay buena correlación entre el método de impedancia y fluorescencia para el recuento de plaquetas en pacientes con trombocitopenias

**Conclusiones:** Al realizar el recuento de trombocitopenias por el método de impedancia y fluorescencia no hubo diferencias significativas en sus valores, aun así tenemos que utilizar el método de fluorescencia cuando observamos trombocitopenias menores  $50 \times 10^3 /\mu\text{L}$ .

**Palabras Clave:** Recuento de plaquetas, método de impedancia, método de fluorescencia

## ABSTRACT

**Objective:** **Objective:** To compare the platelet count by impedance and fluorescence methods in patients with thrombocytopenia at the Hospital National Dos de Mayo, Lima 2018

**Material and Methods:** A comparative, descriptive, retrospective, cross-sectional, retrospective study. It was carried out in the National Hospital Dos de Mayo, in the area of hematology of the Department of Clinical Pathology and Pathology, to make the comparison between the impedance and fluorescence method in patients with thrombocytopenia, for this study he used the Hematological XN 1000 Sysmex equipment.

**Population:** Adult patients of both sexes from emergency, hospitalized and uci, in the period from January 15 to May 31, 2018

**Sample:** The sample size was 332 patients

**Results:** our study shows that there is a good correlation between the impedance and fluorescence method for the platelet count in patients with thrombocytopenia

**Conclusions:** When performing the count of thrombocytopenias by the impedance and fluorescence method there were no significant differences in their values, even so we have to use the fluorescence method when we observe thrombocytopenia less than or equal to  $20 \times 10^3 / \mu\text{L}$ .

**Key Words:** Platelet count, impedance method, fluorescence method

## INDICE

|                         |    |
|-------------------------|----|
| CARÁTULA.....           | 1  |
| HOJA DE APROBACIÓN..... | 2  |
| DEDICATORIA.....        | 3  |
| AGRADECIMIENTO.....     | 4  |
| EPÍGRAFE.....           | 5  |
| RESUMEN.....            | 6  |
| ABSTRACT.....           | 7  |
| <br>                    |    |
| ÍNDICE.....             | 8  |
| LISTA DE TABLAS.....    | 10 |
| LISTA DE GRÁFICOS.....  | 11 |
| INTRODUCCIÓN.....       | 12 |

### CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

|                                      |    |
|--------------------------------------|----|
| 1.1. Planteamiento del Problema..... | 13 |
| 1.2. Formulación del Problema.....   | 15 |
| 1.2.1. Problema General .....        | 15 |
| 1.2.2. Problemas Específicos .....   | 15 |
| 1.3. Objetivos.....                  | 16 |
| 1.3.1. Objetivo General.....         | 16 |
| 1.3.2. Objetivos Específicos.....    | 16 |
| 1.4. Hipótesis                       |    |
| 1.4.1. Hipótesis General.....        | 17 |
| 1.4.2. Hipótesis Específicos.....    | 17 |
| 1.5. Justificación.....              | 17 |

## **CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO**

|  |    |
|--|----|
| 2.1. Bases Teóricas.....                 | 19 |
| 2.2. Antecedentes.....                   | 31 |
| 2.2.1. Antecedentes Internacionales..... | 31 |
| 2.2.2. Antecedentes Nacionales.....      | 37 |

## **CAPÍTULO III: METODOLOGÍA**

|   |    |
|---|----|
| 3.1. Diseño del Estudio.....              | 40 |
| 3.2. Población.....                       | 40 |
| 3.2.1. Criterios de Inclusión.....        | 40 |
| 3.2.2. Criterios de Exclusión.....        | 40 |
| 3.3. Muestra.....                         | 40 |
| 3.4. Operacionalización de Variables..... | 41 |
| 3.5. Procedimientos y Técnicas.....       | 42 |
| 3.6. Plan de Análisis de Datos.....       | 44 |

## **CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

|                           |    |
|---------------------------|----|
| 4.1. Resultados.....      | 45 |
| 4.2. Discusión.....       | 65 |
| 4.3. Conclusiones.....    | 68 |
| 4.4. Recomendaciones..... | 69 |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b> | <b>70</b> |
|--|-----------|

|                    |           |
|--------------------|-----------|
| <b>ANEXOS.....</b> | <b>74</b> |
|--------------------|-----------|

|                                    |           |
|------------------------------------|-----------|
| <b>MATRIZ DE CONSISTENCIA.....</b> | <b>77</b> |
|------------------------------------|-----------|

## LISTA DE TABLAS

|  | Pág. |
|--|------|
| Tabla N°1: Distribución de la trombocitopenia de acuerdo al rango de plaqueta.....   | 45   |
| Tabla N° 2: Distribución de la trombocitopenia según la presencia o no de alarmas.....   | 46   |
| Tabla N° 3: Distribución de la trombocitopenia según el tipo de alarma plaquetaria.....  | 47   |
| Tabla N°4: Distribución de la trombocitopenia según el VPM.....  | 48   |
| Tabla N° 5: Distribución de la trombocitopenia según el IPF.....   | 49   |
| Tabla N° 6: Distribución de la trombocitopenias según la edad.....   | 50   |
| Tabla N° 7: Distribución de la trombocitopenia según el sexo.....  | 51   |
| Tabla N° 8: Distribucion de la trombocitopenia según la procedencia.....   | 52   |
| Tabla N° 9: Comparación del recuento de plaquetas por rango.....   | 53   |
| Tabla N° 10: Comparación del recuento de plaquetas por la IPF.....   | 54   |
| Tabla N° 11: Comparación del recuento de plaquetas por el VPM.....   | 54   |
| Tabla N°12: Comparación del recuento de plaquetas por la presencia de alarmas .....  | 55   |
| Tabla N°13: Comparación del recuento de plaquetas por el tipo de alarma....  | 55   |
| Tabla N°14: Valores de error sistemático obtenidos por el método PLT-I en función de niveles de decisión clínica para las plaquetas..... | 57   |
| Tabla N°15: Recuentos de plaquetas con una media de referencia porcentual + 1.96 DE.....   | 60   |

## LISTA DE GRÁFICOS

|   | Pág. |
|---|------|
| Grafico N° 1: Distribución de la trombocitopenia de acuerdo al rango de plaquetas.....      | 45   |
| Grafico N° 2: Distribución de la trombocitopenia según la presencia o no de alarmas.....    | 46   |
| Grafico N° 3: Distribución de la trombocitopenia según el tipo de alarmas plaquetarias..... | 47   |
| Grafico N° 4: Distribución de la trombocitopenia según el VPM.....                          | 48   |
| Grafico N° 5: Distribución de la trombocitopenia según el IPF.....                          | 49   |
| Grafico N° 6: Distribución de la trombocitopenias según la edad.....                        | 50   |
| Grafico N° 7: Distribución de la trombocitopenia según el sexo.....                         | 51   |
| Grafico N° 8: Distribucion de la trombocitopenia según la procedencia.....                  | 52   |
| Grafico N° 9: Regresión del recuento de plaquetas.....                                      | 56   |
| Grafico N° 10 : Diferencias del recuento de plaquetas.....                                  | 58   |
| Grafico N° 11 : Diferencia % del recuento de plaquetas.....                                 | 59   |
| Grafico N° 12: Correlación de plaquetas entre $50 - 100 \times 10^3 / \mu\text{L}$ .....    | 61   |
| Grafico N° 13: Correlación de plaquetas entre $20 - 50 \times 10^3 / \mu\text{L}$ .....     | 62   |
| Grafico N° 14: Correlación de plaquetas $>$ de $20 \times 10^3 / \mu\text{L}$ .....         | 63   |

# INTRODUCCIÓN

Actualmente en la mayoría de establecimientos de salud debido a la gran carga de trabajo y las múltiples patologías que se atienden es necesario contar con equipos de última generación con tecnología de punta, rápidos que atiendan la gran demanda que existe hoy en día , pero sobre todo que cuenten con los estándares de calidad y sean de gran ayuda para el apoyo al diagnóstico en beneficio del paciente, la razón de ser de todos los profesionales de este sector, el área de laboratorio clínico y anatomía patológica no está exento de esta desarrollo tecnológico , actualmente el Hospital Nacional Dos de Mayo que es un nosocomio de nivel III – 1 cuenta con el analizador hematológico XN 1000 el cual utiliza el método de impedancia para la mayoría de los conteos de plaquetas cuando la exactitud del recuento no puede garantizarse se utiliza la fluorescencia lo que nos garantiza un conteo más confiable. Lo cual es de gran ayuda para el profesional para tomar decisiones terapéuticas, por tal motivo se originó esta inquietud de comparar el método de impedancia y fluorescencia tecnología que cuenta dicho analizador hematológico y poder valorar en qué momento se puede utilizar la impedancia o la fluorescencia para garantizar un buen recuento de plaquetas

## CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1. Planteamiento del Problema

La trombocitopenia que se define como un recuento de plaquetas menor de  $100 \times 10^3/\mu\text{L}$ , es la causa más común de sangrado de importancia clínica. Los principales procesos fisiopatológicos que producen trombocitopenia son la disminución de la producción de plaquetas, su destrucción acelerada y su distribución anormal o secuestro. Es raro que el sangrado se produzca cuando el recuento de plaquetas es mayor de  $50 \times 10^3/\text{uL}$ , pero el riesgo aumenta de manera progresiva a medida que disminuye por debajo de ese nivel. Los pacientes con recuentos plaquetarios de  $20 \times 10^3/\text{uL}$  o menores pueden tener síntomas hemorrágicos leves. En general, los pacientes con recuentos de plaquetas menor a  $10 \times 10^3/\text{uL}$  se consideran en riesgo de sufrir episodios hemorrágicos graves (1).

Con la incorporación de los analizadores de hematología o contadores electrónicos de células, la mayoría de los laboratorios clínicos, incluyen en el examen de hemograma, el recuento de plaquetas y los nuevos parámetros relacionados con ellas, por lo cual el hallazgo de trombocitopenia cada vez es más frecuente (2).

La prevalencia de la trombocitopenia es muy variable, se presenta en el 0,9% de las consultas de urgencia y entre el 25% y 41% de los pacientes en unidades de cuidados intensivos (3).

En todos los casos de trombocitopenia, el laboratorio clínico, antes de informar el resultado del hemograma, debe verificar el hallazgo mediante la aplicación de un protocolo interno de trabajo, y el médico, antes de tomar una conducta terapéutica, debe confirmar la veracidad del hallazgo, y una vez reconfirmado, identificar la causa de la trombocitopenia (2).

Por lo tanto, realizar el conteo plaquetario es indispensable en estas patologías, para esto los laboratorios clínicos pueden utilizar métodos automatizados o manuales, éstos últimos presentan la desventaja de requerir mucho tiempo y depender de la habilidad del analista (4).

El principio de impedancia fue el primer método automatizado para el recuento de plaquetas, pero esta presenta limitaciones como la incapacidad para distinguir las plaquetas de otras partículas que se superponen al rango de tamaño de las plaquetas, en particular, los eritrocitos fragmentados y microcíticos. Luego aparecieron los métodos ópticos, que son más exactos que el de impedancia (4).

En el año 2010 aparece el método de fluorescencia donde a las plaquetas se les acopla un fluorocromo, a través de un anticuerpo monoclonal que reconoce una estructura específica de la célula y luego son detectadas mediante la técnica de citometría de flujo utilizando un láser (5).

Por lo tanto es necesario conocer las diferencias de los resultados entre las tecnologías que utilizan nuestros analizadores hematológicos ya que de esto depende la exactitud y precisión del recuento de plaquetas en especial en las trombocitopenias y cuando existan interferencias.

## **1.2. Formulación del Problema:**

### **1.2.1. Problema General**

¿Cuál es la diferencia en el recuento de plaquetas mediante los métodos de impedancia y fluorescencia, en pacientes con trombocitopenia del Hospital Nacional Dos de Mayo, Lima 2018?

### **1.2.2. Problemas Específicos**

- ¿Cuál es la diferencia en el recuento de plaquetas mediante los métodos de impedancia y fluorescencia, en pacientes con trombocitopenia del Hospital Nacional Dos de Mayo, Lima 2018, según rangos de plaquetas?
- ¿Cuál es la diferencia en el recuento de plaquetas mediante los métodos de impedancia y fluorescencia, en pacientes con trombocitopenia del Hospital Nacional Dos de Mayo, Lima 2018, según la presencia o no de alarmas?
- ¿Cuál es la diferencia en el recuento de plaquetas mediante los métodos de impedancia y fluorescencia, en pacientes con trombocitopenia del Hospital Nacional Dos de Mayo, Lima 2018, según el volumen plaquetario medio (VPM) y la fracción de plaquetas inmaduras (IPF)?
- ¿Cómo es la distribución de pacientes con trombocitopenia del Hospital Nacional Dos de Mayo, Lima 2018, según la edad, sexo y procedencia del paciente?

### **1.3. Objetivos:**

#### **1.3.1. Objetivo General**

Comparar el recuento de plaquetas mediante los métodos de impedancia y fluorescencia, en pacientes con trombocitopenia del Hospital Nacional Dos de Mayo, Lima 2018.

#### **1.3.2. Objetivos Específicos**

- Determinar la diferencia entre el recuento de plaquetas mediante los métodos de impedancia y fluorescencia, en pacientes con trombocitopenia del Hospital Nacional Dos de Mayo, Lima 2018, según rangos de plaquetas.
- Determinar la diferencia entre el recuento de plaquetas mediante los métodos de impedancia y fluorescencia, en pacientes con trombocitopenia del Hospital Nacional Dos de Mayo, Lima 2018, según la presencia o no de alarmas.
- Determinar la diferencia entre el recuento de plaquetas mediante los métodos de impedancia y fluorescencia, en pacientes con trombocitopenia del Hospital Nacional Dos de Mayo, Lima 2018, según el volumen plaquetario medio (VPM) y la fracción de plaquetas inmaduras (IPF).
- Determinar la distribución de pacientes con trombocitopenia del Hospital Nacional Dos de Mayo, Lima 2018, según la edad, sexo y procedencia del paciente.

## **1.4. Hipótesis:**

### **1.4.1. Hipótesis General**

No existe diferencia en el recuento de plaquetas mediante el método de impedancia y fluorescencia en pacientes con trombocitopenia del hospital dos de mayo 2018

### **1.4.2. Hipótesis Específicos**

No existe diferencias significativas en el recuento de plaquetas mediante el método de impedancia y fluorescencia en pacientes con trombocitopenia, según en rango de plaquetas, según la presencia de alarmas, VPM, IPF, edad, sexo y procedencia del paciente, en el hospital Dos de Mayo 2018

## **1.5. Justificación:**

La necesidad de analizadores hematológicos automatizados que produzcan recuentos exactos de plaquetas, particularmente en pacientes con trombocitopenia, es imperativa, pues se trata de alteraciones potencialmente graves.

Dada la importancia de este análisis para el estudio de diversas patologías, resulta importante que el personal de laboratorio conozca la eficacia de los métodos empleados en el laboratorio, a fin de emplear la metodología que aporte mejores resultados.

Por lo cual, surgió la inquietud de valorar y comparar el recuento de plaquetas dado por los métodos de impedancia y fluorescencia, utilizado por el analizador hematológico automatizado Sysmex XN-1000 y así aportar más información que sirva como interpretación para la validación de resultados de laboratorio y que esta sea de beneficio al paciente.

## **CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Bases Teóricas:**

#### **Plaquetas**

Las plaquetas, descubiertas en 1882 por Giulio Bizzozero, han sido tradicionalmente presentadas como restos citoplasmáticos de los megacariocitos. Sin embargo, en la actualidad se considera que son células anucleadas y que, además de tener un rol fundamental en la hemostasia y la trombosis, participan también en el desarrollo de diferentes procesos tales como la remodelación tisular, la inflamación y el control de infecciones virales y bacterianas. (6).

#### **Trombocitopenia**

El rango de referencia para el recuento de plaquetas varía entre laboratorios, generalmente se le considera entre 150 a 450 x 10<sup>3</sup>/μL. La trombocitopenia se define como la disminución del número absoluto de plaquetas en la sangre periférica por debajo de 100 x 10<sup>3</sup>/μL (1).

#### **Clasificación fisiopatológica de la trombocitopenia.**

La clasificación fisiopatológica agrupa la etiología de la trombocitopenia de acuerdo con la causa íntima a saber:

- a) Por disminución de la producción de las plaquetas
- b) Por destrucción o consumo aumentado de las plaquetas

#### **a. Disminución de la producción**

En este caso, se produce insuficiente cantidad de plaquetas en la médula ósea. Existen diferentes condiciones en este grupo, tales como la anemia aplásica, cáncer infiltrado en la médula ósea, cirrosis, deficiencia de folatos, síndrome mielodisplásico o deficiencia de vitamina B12. También el uso de ciertas drogas puede conducir a una baja producción de plaquetas en la médula ósea. El ejemplo más común es el tratamiento por quimioterapia (2).

#### **b. Mayor destrucción o consumo aumentado**

Este tipo de trombocitopenia es debido a una mayor destrucción de las plaquetas en el torrente sanguíneo, bazo o hígado. Ejemplos son la coagulación intravascular diseminada (CID), inducida por drogas, hiperesplenismo, purpura trombocítica inmune (PTI) o purpura trombótica trombocitopenica (PTT) (2).

#### **Recuento de plaquetas**

En el estudio y seguimiento de un paciente con trombocitopenia es indispensable disponer de un recuento de plaquetas confiable y éste va a depender de la metodología que se utilice. Desde el punto de vista del laboratorio clínico se dispone de dos tipos de recuentos de plaquetas: el manual y el electrónico (4).

- **Método manual:**

Hasta la incorporación de los contadores de células al equipamiento de los laboratorios clínicos, la única manera de contar las plaquetas era en cámara de Neubauer, teniendo como prueba de referencia la microscopía de contraste de fase, que sólo estuvo disponible en unos pocos laboratorios de investigación. Este método aparte de ser tedioso, consumen mucho tiempo del profesional y a pesar de que se sigan los más estrictos criterios de calidad y se hagan por personal experimentado, tienen un coeficiente de variación de 10% a 25%. Además, a la luz de la disponibilidad tecnológica en los laboratorios clínicos, los métodos manuales para determinar los componentes del hemograma como el recuento de plaquetas, no son costo-eficientes ya que es muy impreciso, por lo que en la actualidad no son recomendables (4).

- **Método automatizado:**

Los contadores automatizados de plaquetas de primera generación, fueron introducidos en los laboratorios clínicos hace casi medio siglo.

Algunos sistemas de primera generación mejorados, como PLT-I (Sysmex, Kobe, Japón), CD-I (Abbott Laboratories, North Chicago, IL, USA) y la impedancia de la LH-750 (Beckman Coulter, Brea, CA, USA), se instalaron en analizadores hematológicos automatizados modernos y todavía se utilizan en laboratorios clínicos.

Sin embargo, los sistemas de primera generación no pueden distinguir las plaquetas de otras partículas del mismo tamaño porque dependen sólo del tamaño de partícula, que se mide mediante impedancia eléctrica (7).

Para resolver este problema, se desarrolló un método de recuento de plaquetas preciso que utiliza anticuerpos monoclonales específicos de plaquetas y citometría de flujo multiparamétrico. Pero debido a su costosa operación y complicados procedimientos, este método inmunológico no se utiliza rutinariamente en los laboratorios clínicos, pero si es el método de referencia para el recuento de plaquetas.

La segunda generación de sistemas contadores de plaqueta automatizadas, están basados en citometría de flujo. Estos sistemas, como PLT-O (Sysmex), CD ' s-O (Abbott) y ADVIA óptica contar método (Siemens), son analizadores hematológicos automatizados actualmente utilizados en los laboratorios clínicos. Estos métodos pueden contar las plaquetas correctamente en la mayoría de las muestras de sangre, excepto aquellas que tienen con valores bajos de plaquetas o aquellos que contienen células anormales, tales como macroplaquetas. En particular, las muestras de sangre de pacientes severamente quemados son las muestras más difíciles para los contadores comunes de plaquetas porque contienen demasiados hematíes fragmentados (esquistocitos), que son del mismo tamaño que las plaquetas. Aunque el método de cuenta plaquetaria más fiable para tales muestras es la citometría de flujo con anticuerpos específicos de plaquetas, este método sigue siendo difícil de usar en la rutina de los laboratorios clínicos. (8).

Por estas razones, se requería de un sistema de conteo de plaquetas rápido, fiable, asequible y fácil de usar. El método de recuento plaquetas automático de última generación (PLT-F), se basa en un marcador fluorescente y citometría de flujo, se encuentra instalado en analizadores hematológicos de la serie XN 1000 de la marca Sysmex.

El sistema PLT-F es superior a los dos métodos de rutina existentes: la (impedancia y óptica). Este método tiene adecuada correlación con el método de referencia inmunológico, incluso para muestras con recuentos bajos de plaquetas. Además, el sistema PLT-F puede contar las plaquetas en las muestras de sangre de pacientes con quemaduras severas con la misma precisión que el método de referencia (9).

### **Método de Impedancia para recuento de plaquetas**

Fue descrito por Wallace Coulter, esta técnica de sistema de flujo ha sido desarrollada para detectar los cambios de impedancia debido a la resistencia que produce el paso de células a través de un orificio sensor.

En este método, las células son consideradas como partículas completamente resistivas y no conductoras. Cuando las células están suspendidas en una solución electrolítica y pasan a través de una apertura, el cambio en la impedancia eléctrica es detectado en esa zona. Cada célula da una señal de impedancia, el cual es proporcional al volumen de las células detectadas, y así, este método puede ser usado para obtener tanto el tamaño como el número de células. Al inicio este método solo fue aplicado para el recuento de hematíes y leucocitos, más tarde se aplicó

para el recuento de plaquetas, pero se hacía uso de plasma rico en plaquetas. Posteriormente, se mejoró esta tecnología mediante el enfoque hidrodinámico para la corrección de doble coincidencia, lo que condujo a la discriminación de hematíes y plaquetas, obteniendo un recuento más exacto de plaquetas en sangre periférica.

El software del analizador tiene integrado una fórmula para que la coincidencia sea corregida. Sin embargo, la corrección del recuento no determina si el pulso grande se debe al paso de dos células pequeñas o una célula, ya que no es el camino para corregir el volumen celular. Los pulsos obtenidos permiten representarlos en una distribución normal y visualizarlos como histogramas en el analizador hematológico.

En este método, las partículas menores a 20 fL, los cuales incluye fragmentos de hematíes, fragmentos de células leucémicas, microcitos y crioglobulinas pueden ser contadas como plaquetas, resultando en un recuento espurio elevado (4).

### **Método óptico para recuento de plaquetas**

- **Recuento óptico unidimensional y bidimensional:**

En el análisis de plaquetas unidimensional, las plaquetas son contadas y medidas por un sistema de citometría de flujo en el cual las células en un diluyente adecuado pasan a través de un estrecho haz de luz (laser de helio-neón). La iluminación y la dispersión de luz por cada célula son medidas en un ángulo. Esto conduce a la evaluación del número de pulsos eléctricos generados en proporción al número y volumen de células. Para

mejorar la discriminación de la exactitud de plaquetas y otras partículas diferentes a esta, se introdujo la dispersión de luz láser en dos dimensiones. La medida de las dos dispersiones de luz es convertida en información de volumen (medida del tamaño) e índice de refractividad (densidad de la plaqueta) obtenidas mediante el uso de la teoría Mie de la dispersión de luz de esferas homogéneas. El análisis integrado es usado para distinguir plaquetas, macroplaquetas, hematíes, fragmentos de células y desechos. Las plaquetas son identificadas en un citograma de dispersión (dispersograma) basado en volumen e índice de refractividad.

Los fragmentos de hematíes y microcitos con el mismo rango de volumen tienen mayor índice de refractividad que las plaquetas. Las células rojas fantasmas (debris) tienen menor índice de refractividad que las plaquetas. La introducción del recuento óptico de plaquetas mejoro la exactitud en muestras con macroplaquetas (4).

- **Recuento óptico de plaquetas fluorescentes – citometría de fluorescencia:**

Utiliza una tinción de polimetina para teñir los ácidos nucleicos de células reticuladas, membrana de plaquetas y gránulos. Esta tecnología lleva un conteo simultáneo de reticulocitos, hematíes y plaquetas fluorescentes. En la celda de flujo, cada célula pasa a través de un rayo de luz de un láser semiconductor. La intensidad de la fluorescencia de cada célula es analizada, lo cual conduce la separación de plaquetas de hematíes y reticulocitos. La tinción fluorescente de las plaquetas no solo lleva a la

exclusión de partículas no plaquetarias, sino también conduce la inclusión de plaquetas gigantes (4).

### **Método referencial para el recuento de plaquetas: Razón hematíes / plaquetas**

La ICSH (International Council for Standardization in Hematology) recomienda un recuento indirecto de plaquetas mediante citometría de flujo y anticuerpos CD41 y CD61. El recuento, mediante citometría de flujo, de hematíes y plaquetas específicamente marcadas, junto con un exacto recuento de hematíes determinado con un contador de partículas de apertura por impedancia, monocanal y semiautomatizado. Ello da un método suficientemente exacto y preciso para ser usado como calibrador de contadores celulares y asignar valores para calibración de materiales (4).

**Posibles interferencias cuando se utiliza el método de impedancia.** Las interferencias analíticas pueden resultar en un conteo de plaquetas falsamente bajo o alto de plaquetas. Los siguientes componentes pueden causar esta interferencia (7):

- **Plaquetas gigantes:**

Son plaquetas que tienen un tamaño mayor que la media de los hematíes. Se encuentran en enfermedades congénitas, como el síndrome de Bernard-Soulier y enfermedades mieloproliferativas como la mielodisplasia, leucemia mieloide aguda y trombocitopenia esencial. Debido a su tamaño pueden exceder el valor de umbral de tamaño de plaquetas normal. Esta

aparece como una alarma en el analizador. Se cuentan las plaquetas grandes como hematíes lo cual podría producir una falsa trombocitopenia.

- **Agregación y aglutinación plaquetaria:**

Un recuento falso de plaquetas disminuidas es a menudo debido a la presencia de agregados plaquetarios y más raramente, a la formación de satelitismo en la muestra de sangre. La agregación plaquetaria es la aglutinación de plaquetas en la sangre, se producen debido a la activación de las plaquetas después de una venopunción defectuosa y es irreversible. Por otro lado, la aglutinación de plaquetas es un proceso reversible, causado generalmente por la presencia de anticuerpos en la sangre. Se trata de un artefacto in vitro que no aparece a temperatura fisiológica. Otras causas que pueden llevar a una falsa trombocitopenia es la incompatibilidad con anticoagulantes como el EDTA.

El satelitismo plaquetarios es también un fenómeno mediado por anticuerpos, dependiente de EDTA.

El analizador hematológico genera un mensaje de alarma y una curva de distribución anormal.

- **Fragmentos celulares:**

Los fragmentos o hematíes displásicos pueden causar valores falsamente elevados de plaquetas. Estos fragmentos miden menos de 25 fL y por lo tanto caen por debajo del valor discriminador superior para las plaquetas. Este fenómeno también puede ocurrir si existen leucocitos fragmentados.

- **Hematíes microcíticos:**

Estos hematíes con un volumen corpuscular medio disminuido, son contados como plaquetas, ya que pueden tener el mismo tamaño.

### **ANALIZADOR HEMATOLÓGICO Sysmex XN**

Los analizadores de la serie XN utilizan impedancia para la mayoría de los conteos de plaquetas. Cuando la exactitud en el conteo de plaquetas no puede garantizarse por medio de la impedancia, debido a la presencia de interferentes, el resultado es marcado con una alarma. El XN realiza automáticamente un análisis reflexivo en un nuevo canal usando un reactivo fluorescente y aumenta el tiempo de conteo seis veces. En el nuevo canal de plaquetas fluorescentes, las plaquetas son identificadas y contadas utilizando un colorante fluorescente de oxazina, específico para plaquetas, el cual tiñe la superficie del retículo endoplásmico y la mitocondria plaquetaria. Esta identificación celular tiene una correlación excelente con los anticuerpos monoclonales CD41/CD61 y minimiza la interferencia por fragmentos de hematíes, microcitos o fragmentos de leucocitos (10).

#### **Método óptico: Distribución de tamaños de las plaquetas**

El recuento de plaquetas (PLT) se calcula como el recuento de las partículas situadas entre dos discriminadores, uno inferior (LD) y otro superior (UD), que se establecen automáticamente entre 2 - 6 fL y 12 - 30 fL, respectivamente. Las distribuciones de tamaños de plaquetas se someten a una comprobación de anomalías, incluidas frecuencias relativas

anómalas en el discriminador inferior, anchuras de distribución anómalas y existencia de más de un pico (10).

### **Métodos de fluorescencia: Canal PLT-F**

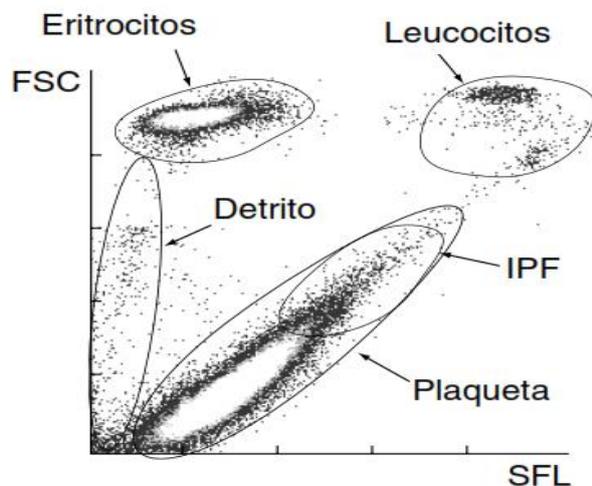
El canal PLT-F sirve para calcular con precisión las plaquetas, en especial, los recuentos bajos. Mediante el método de la citometría de flujo con láser semiconductor, se elabora un diagrama de dispersión bidimensional, cuyo eje X representa la intensidad de la luz fluorescente lateral (SFL) y el eje Y representa la intensidad de la luz dispersa frontal (FSC). Este diagrama de dispersión presenta grupos de plaquetas, parte de los eritrocitos, parte de los leucocitos y detritos (10).

### **Fracción de Plaquetas Inmaduras (IPF):**

La IPF se obtiene como una proporción entre el recuento de plaquetas en el área con fuerte intensidad de luz fluorescente en el diagrama PLT-F (zona IPF) y el recuento total de plaquetas (10).

$$\text{IPF} = \frac{\text{Recuento de partículas en la zona IPF}}{\text{Recuento de partículas en la zona de plaquetas}} \times 100$$

Recuento de partículas en la zona de plaquetas



La IPF es un parámetro moderno que cuantifica las plaquetas jóvenes y, por tanto, reticuladas en sangre periférica. El intervalo de referencia se encuentra alrededor de entre el 1y el 10% del recuento total de plaquetas. Su medición ofrece una evaluación de la producción de plaquetas de la médula ósea, ya que se incrementa cuando aumenta la producción. Tiene una alta utilidad clínica en el diagnóstico de laboratorio y el tratamiento de la trombocitopenia, debido a su capacidad de relacionar niveles elevados de IPF con un aumento de la destrucción de plaquetas periféricas. Es de especial utilidad para apoyar el diagnóstico de la púrpura trombocitopénica idiopática y la púrpura trombocitopénica trombótica, así como para distinguir entre estos trastornos y una inhibición o una insuficiencia de la médula ósea. En éste último caso, el valor de la IPF debería ser bajo. También puede ser una medida sensible para evaluar la recuperación trombopoyética durante una anemia aplásica producida por la quimioterapia (11).

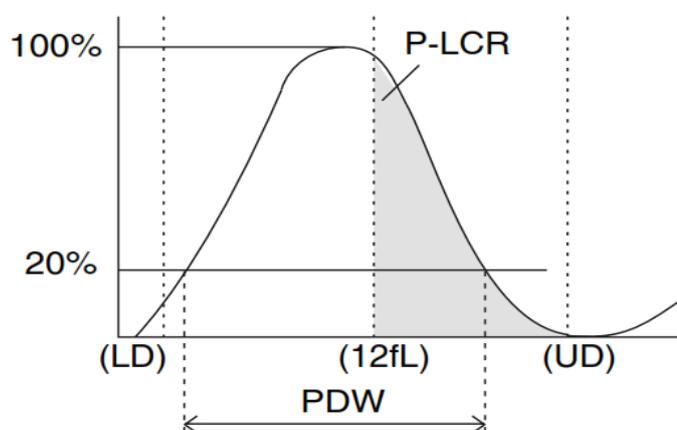
## Volumen Plaquetario Medio (VPM)

El valor de MPV se calcula a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{MPV (fL)} = \frac{\text{PCT (\%)}}{\text{PLT (x } 10^3/\mu\text{L)}} \times 10000$$

$$\text{PLT (x } 10^3/\mu\text{L)}$$

PCT\*: PCT es el llamado hematocrito plaquetario o proporción de volumen de plaquetas, y se pondera hacia la frecuencia de PLT (10).



## Mensajes PLT IP

- **Mensajes anormales: PLT Abn Distribution**

Significado: Distribución anormal de PLT

Método / ecuación de evaluación: Evaluado de distribución PLT.

- **Mensajes sospechosos: PLT Clumps?**

Significado: Posibilidad de agregados de plaquetas

Método / ecuación de evaluación: Calculado a partir de la presencia de agrupamientos de PLT en los diagramas de dispersión WNR, WDF y PLT-

## **2.2. Antecedentes:**

### **2.2.1. Antecedentes Internacionales:**

En el año 2002, en el Hospital de la Universidad de Cleveland (EEUU), se compararon la exactitud y precisión de los recuentos de plaquetas por impedancia realizados por los equipos Beckman Coulter LH 750 y Sysmex XE 2100 y los recuentos ópticos de los equipos Advia 120 y Sysmex XE 2100 con el método de referencia. Las muestras analizadas tenían recuentos de plaquetas inferiores a  $150 \times 10^3 / \mu\text{L}$  con un indicador de plaquetas o menos de  $75 \times 10^3 / \mu\text{L}$  en el Sysmex SE 9500. Las 105 muestras se procesaron simultáneamente en cada analizador. Se usaron anticuerpos monoclonales anti-CD41 y anti-CD61 para la determinación por citometría de flujo del recuento de plaquetas de referencia mediante el método de relación hematíes / plaquetas. Los recuentos de plaquetas en los analizadores Beckman Coulter y Sysmex mostraron una mejor correlación con el método de referencia que los recuentos ópticos de plaquetas de Advia y Sysmex. En los umbrales de transfusión de plaquetas de  $10$  y  $20 \times 10^3 / \mu\text{L}$ , la precisión de los métodos de impedancia fue algo mejor que la de los métodos ópticos. Indicaron que los métodos de recuento óptico de plaquetas en ese momento no eran superiores a los recuentos por impedancia para la población estudiada (12).

En el año 2005, se realizó un estudio multicéntrico en diversos hospitales de Inglaterra, para determinar la precisión de los analizadores hematológicos en el recuento de plaquetas inferiores a  $20 \times 10^3/\mu\text{L}$ . Se compararon los recuentos de plaquetas realizados por los analizadores que utilizan métodos ópticos, impedancia e inmunológicos con el método de referencia internacional (IRM). Los resultados demostraron la variación en el recuento de plaquetas entre diferentes analizadores e incluso en la misma marca de diferentes hospitales. Los métodos ópticos de los analizadores XE 2100, Advia 120, Cell-Dyn 4000 y H3 \* no fueron superiores a los métodos de impedancia de los analizadores XE 2100, LH750 y Pentra. Todos los analizadores, excepto uno, sobreestimaron el recuento de plaquetas, lo que resultaría en transfusión de plaquetas. Este estudio destaca las imprecisiones de los analizadores de hematología en el recuento de plaquetas en la trombocitopenia grave. Resaltaron la necesidad de un control de calidad externo para mejorar la calibración del analizador para muestras con recuentos bajos de plaquetas, y sugiere que deberían reevaluarse los umbrales óptimos para las transfusiones de plaquetas profilácticas (13).

En el año 2006, se investigó en el Hospital de la Universidad de Cambridge (Inglaterra) si se producen diferencias entre los métodos de impedancia e inmunofluorescencia para el recuento de plaquetas en pacientes con púrpura trombocitopenia idiopática (PTI). La inmunofluorescencia dio un recuento de plaquetas mayor a 50% que la prueba de impedancia en 9/35 (26%) pacientes, de los cuales 4/35 (11%) fueron > 100% más altos. La severidad clínica de la trombocitopenia se modificó como resultado de la prueba de

inmunofluorescencia en 14/35 (40%) pacientes. El volumen plaquetario medio y el ancho de distribución de plaquetas no predijeron la discrepancia entre el método de la impedancia y la inmunofluorescencia. Sugirieron que los recuentos de plaquetas de inmunofluorescencia se realicen en todos los pacientes con PTI cuando se está considerando una intervención terapéutica o diagnóstica (14).

En el año 2010, en el Hospital de la Universidad de Seúl (Corea), se evaluó si el recuento de plaquetas en pacientes con leucemia aguda y coagulación intravascular diseminada (CID), pueden tener un mayor riesgo a errores debido a la presencia de partículas no plaquetas o la activación plaquetaria. Evaluaron el recuento mediante los métodos de los analizadores Abbott Cell-Dyn Sapphire, Sysmex XE-2100, ADVIA 2120 y Beckman Coulter LH 750 en comparación con el de referencia internacional (IRM). Estos métodos fueron inexactos en comparación con la IRM, sin evidencia de interferencia de las partículas no plaquetas. Los marcadores de la activación plaquetaria se asociaron con severidad de la CID y el recuento erróneo de plaquetas, sugiriendo que la activación es una potencial fuente de inexactitud. Además, la activación de las plaquetas in vitro artificial inducía a un alto grado de variación intermetodos para el recuento. Concluyeron que el recuento de plaquetas inexacto aumentó el riesgo de diagnóstico erróneo de la CID y que debería prestarse más atención a la exactitud de los recuentos, especialmente en condiciones clínicas con marcada activación plaquetaria (15).

En el 2013, en el Centro Medico de Alkmaar (Holanda), evaluaron la precisión

del método de fluorescencia (PLT-F) del analizador Sysmex XN-2000, para el recuento de plaquetas menores a  $50 \times 10^3/\mu\text{L}$ , en comparación con el método de referencia ICSH CD61-InmunoPLT. También compararon el método de impedancia (PLT-I) y óptica (PLT-O) determinados en los analizadores XN2000 y XE2100 respectivamente. Analizaron 37 muestras de sangre con recuento de plaquetas menores a  $50 \times 10^3/\mu\text{L}$  en los equipos. El método de referencia se realizó en un citómetro de flujo Beckman Coulter FC-500. La reproducibilidad para el recuento de plaquetas menores de  $20 \times 10^3/\mu\text{L}$  por los métodos PLT-I, PLT-O y PLT-F en el XN2000 demostró coeficientes de variación de 9,3%, 8.5% y 3.0%, respectivamente. La correlación entre el PLT-O en el XN2000 y XE2100 rindió un valor de  $r > 0.977$ . El análisis de regresión lineal entre los métodos PLT-F y referencia dio lugar a la fórmula  $\text{PLT-F} = 0,71 * \text{CD61} - 0.8$  ( $r = 0.988$ ). La regresión lineal entre PLT-F y PLT-O en el XN2000 dio como fórmula  $\text{PLT-F} = 1,05 * \text{PLT-O} - 2$  ( $r = 0.975$ ), y utilizando el umbral de transfusión de  $20 \times 10^3/\mu\text{L}$  fue  $\text{PLT-F} = 0.90 * \text{PLT-O} - 0.4$  ( $r = 0.956$ ). El nuevo método PLT-F demostró excelentes resultados en reproducibilidad en muestras con recuento de plaquetas menores a  $50 \times 10^3/\mu\text{L}$ . La metodología por fluorescencia puede ser útil en la toma de mejores decisiones para las transfusiones de plaquetas (16).

En el año 2014, en la Universidad de Tokio, se evaluó el funcionamiento del analizador hematológico XN-2000, que tiene un canal exclusivo para el

recuento de plaquetas por fluorescencia. Realizaron estudios de linealidad y reproducibilidad y análisis utilizando métodos estándar. También se determinó la correlación entre el PLT-F y el analizador convencional XE-2100 y el Celldyn Sapphire de la marca Abbott Laboratories que utiliza el método inmunológico con anticuerpo monoclonal anti-CD61. Se evaluó el ensayo de interferencia por partículas no plaquetas tales como hematíes y leucocitos fragmentados, utilizando muestras de pacientes con quemaduras y leucemia aguda, respectivamente. Los resultados del recuento de plaquetas por el canal PLT-F para las pruebas de reproducibilidad, linealidad y correlación con el analizador XE-2100, fueron satisfactorios. La correlación también fue excelente con el análisis del Celldyn Sapphire, incluso para muestras de pacientes con quemaduras y con fragmentos de leucocitos, aparecía la alarma de plaquetas anormales y conteo bajo de plaquetas (menor a  $50 \times 10^3/\mu\text{L}$ ). Se concluyó que el rendimiento del recuento de plaquetas en el canal PLT-F de la serie XN tiene adecuada exactitud y precisión en el rango bajo y en muestras anormales, evitando la interferencia de las partículas no plaquetas (17).

En el año 2015, en el Hospital Universitario de Muscat (Oman), se evaluó la precisión de los métodos ópticos e impedancia eléctrica para el recuento de plaquetas, en el analizador Celldyn Sapphire (Abbott Laboratories) en muestras trombocitopénicas con microcitosis. Evaluaron 189 pacientes con trombocitopenia y muestras con valores de VCM  $<76$  fL. Los recuentos de plaquetas estimados por el método de impedancia fueron en promedio un 30% más altos que los estimados por el método óptico ( $p < 0.001$ ). El

coeficiente de correlación intraclassa estimado fue de 0,52 (intervalo de confianza del 95%: 0,41-0,62), lo que indica una fiabilidad moderada entre los métodos. El grado de acuerdo entre los métodos varió de -85.5 a 24.3 con un sesgo estimado de -30, lo que sugiere que estos métodos generan diferentes resultados plaquetarios. Concluyeron que el método de impedancia sobreestimó significativamente los recuentos de plaquetas en muestras de sangre microcítica y trombocitopénica. Indicaron que es necesario mejorar la precisión de los recuentos de plaquetas, particularmente para pacientes con alteraciones asociadas con microcitosis (18).

En el año 2017, se examinaron 249 muestras de pacientes con talasemia del Hospital Siriraj (Tailandia). Se investigó el rendimiento del recuento de plaquetas en el analizador Sysmex XN, mediante los métodos de impedancia (PLT-I), óptico (PLT-O) y fluorescente (PLT-F) y lo compararon con el método de referencia internacional (IRM). Se analizaron los factores que implican PLT-I inexactos. Incluyeron muestras con recuentos de plaquetas con rangos de  $31 \times 10^3 /\mu\text{L}$  a  $932 \times 10^3 /\mu\text{L}$ . La mayoría de los pacientes eran pacientes con talasemia mayor. La correlación entre PLT-I e IRM fue menor que la de los otros métodos en pacientes generales. PLT-O y PLT-F se correlacionaron con IRM al clasificar a los pacientes de acuerdo con los rangos de plaquetas clínicamente significativos. Todos los métodos automatizados tenían sensibilidades aceptables; sin embargo, la especificidad de PLT-I fue baja para el diagnóstico de trombocitopenia. El RDW-CV alto (ancho de banda de distribución de hematíes - coeficiente de variación) fue un factor independiente de medición imprecisa de PLT-I. Concluyeron que entre los

métodos evaluados en pacientes con talasemia, el de impedancia tenía menor correlación con IRM y los resultados con los métodos ópticos y fluorescentes eran comparable con IRM. El recuento de plaquetas ópticas y el examen cuidadoso de frotis de sangre son métodos de recuento de plaquetas alternativos recomendados, según el contexto clínico (19).

### **2.2.2. Antecedentes Nacionales:**

En el Perú se han realizado dos estudios en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN), referentes a este tema.

En el 2011, se determinó la influencia de interferentes en el recuento de plaquetas obtenidos por el analizador hematológico Sysmex XE 2100, en muestras de pacientes con oncologías hematológicas. Estudiaron 232 muestras de personas sanas y 1304 patológicas, se formaron subgrupos de muestras patológicas que tengan un interferente en particular, y realizaron el análisis en cada uno de estos subgrupos. Los interferentes en estudio fueron los fragmentos de hematíes, microcitos (volumen corpuscular medio  $<82$  fL), agregados plaquetarios, parámetros plaquetarios elevados: PLC-R  $> 30\%$  (porcentaje de plaquetas grandes), VPM  $>11$ fL (volumen plaquetario medio), PDW  $> 14\%$  (amplitud de distribución plaquetaria). Compararon los recuentos de plaquetas, mediante los métodos de impedancia hidrofocalizada (PLT-I) y citometría de fluorescencia (PLT-O). Se determinó, la media aritmética, la desviación estándar y el coeficiente de variación del error absoluto de los recuentos (diferencia PLT-O – PLT-I), tanto para los grupos normales y patológicos, en diferentes intervalos de plaquetas e interferentes en particular.

Los resultados muestran que en el intervalo de  $150-450 \times 10^3/uL$  hay mayor dispersión alrededor de la media en muestras con interferentes que en muestras que no lo presentan (muestras normales). La correlación entre los métodos PLT-O y PLT-I en muestras trombocitopénicas (intervalo de plaquetas:  $70 - 150 \times 10^9/L$ ) disminuye en presencia de interferentes. Los interferentes que produjeron disminución en la correlación fueron P-LCR  $>30\%$  y VPM  $>11fL$  ( $R^2=0.854$ ). Cuando estos estuvieron presentes en simultaneo en la muestra, la correlación disminuyó levemente ( $R^2=0.849$ ). Sin embargo, se observó que los fragmentos de hematíes (FRC%)  $>10\%$  son los que producen mayor disminución en la correlación ( $R^2=0.814$ ). Los resultados del test de concordancia entre los métodos evaluados se vieron afectados por los interferentes evaluados, siendo los fragmentos de hematíes y agregados plaquetarios los que produjeron mayor discordancia. Se llegó a la conclusión que los recuentos obtenidos por el método de citometría de fluorescencia en muestras trombocitopénicas y provenientes de pacientes con alguna entidad hemato oncológica están influenciados por los interferentes evaluados. Recomendaron utilizar el Sysmex 2100 XE en modo impedancia para muestras trombocitopénicas en estos pacientes, debido al riesgo de una alta sobrestimación con el método óptico y tomar en cuenta las alarmas que emite el equipo (agregados plaquetarios, fragmentos, distribución anormal plaquetaria, macroplaquetas) (20).

En el 2015, se realizó un estudio con el objetivo de determinar el recuento plaquetario y valores de sus índices (VPM, PDW, P-LCR E IPF) en 34 pacientes con diagnóstico de leucemia mieloide crónica (LMC). De ellos 22

casos (64.7%) fueron del sexo masculino y 12 (35.3%) femeninos. Las edades abarcaron entre 12 y 79 con media de 37 años. Todos los casos fueron separados en dos grupos, según estado clínico hallándose 21 casos (61.76%) de pacientes en tratamiento para LMC, considerados como “antiguos”; y 13 casos (38.24%) fueron pacientes con diagnóstico reciente de LMC considerados como “nuevos”. Las características hematológicas en LMC en fase crónica son recuentos plaquetarios e índices en casos antiguos y nuevos respectivamente, se determinó el recuento de plaquetas por impedancia: 842/845  $\times 10^3/\mu\text{L}$ , recuento de plaquetas ópticas: 1037/917  $\times 10^3/\mu\text{L}$ , para ambas metodologías se halla trombocitosis; y en los índices plaquetarios: volumen plaquetario medio: VPM 10.40/10.78 fL, ancho de distribución plaquetaria: PDW 12.30/12.85 fL, relación de plaquetas gigante: P-LCR 27.77/30.82 %, fracción de plaquetas inmaduras: IPF 5.11/4.49 %. Los valores de referencia fueron plaquetas: 150 – 450  $\times 10^3/\mu\text{L}$ , VPM: 8.8- 12.1 fL, PDW: 9.4-16.2 fL, P-LCR: 14.1-41.9% e IPF: 0.7 – 5.2 %. Se halló trombocitosis en ambos grupos estudiados, y con respecto a los índices plaquetarios todas las medias obtenidas están dentro de los valores de referencia normales usados. No existió una correlación entre los recuentos plaquetarios medidas por las dos metodologías (impedancia y óptica) y los índices plaquetarios estudiados (21).

## **CAPÍTULO III: METODOLOGÍA**

### **3.1. Diseño del Estudio:**

Tipo de estudio comparativo, descriptivo,

### **3.2. Población:**

Muestras procesadas para hemograma completo en el Hospital Nacional

Dos de Mayo, durante el periodo 15 de enero a 30 de setiembre del 2018.

#### **3.2.1. Criterios de Inclusión:**

- Muestras que presenten un recuento de plaquetas menor o igual a  $100 \times 10^3 /\mu\text{L}$ .
- Muestras de pacientes hospitalizados
- Muestras de pacientes de UCI
- Muestras de pacientes mayores de 18 años

#### **3.2.2. Criterios de Exclusión:**

- Muestras repetidas de pacientes.
- Muestras que hayan sido procesadas manualmente.
- Muestras que presenten agregados plaquetarios en lámina.

### **3.3. Muestra:**

Se determinó el tamaño de muestra mediante fórmula (ver anexo N° 1)

resultando un total de 332 muestras.

### **3.4. Operacionalización de Variables:**

| Variable   | Definición Conceptual   | Definición Operacional   | Escala de Medición  | Forma de Registro  |
|--|---|--|---------------------|--|
| <p><b><u>Principal:</u></b></p> <p>Método para recuento de plaquetas</p>   | Procedimiento que se realiza para obtener el recuento de plaquetas por volumen de sangre  | Resultado de metodología aplicada en analizador Sysmex XN-1000: Impedancia Fluorescencia | Discreto            | <ul style="list-style-type: none"> <li>• PLT-I: Plaquetas Impedancia x 10<sup>3</sup>/μL</li> <li>• PLT-F: Plaquetas fluorescentes x 10<sup>3</sup>/μL</li> </ul>    |
| <p><b><u>Secundarias:</u></b></p> <p>Rangos de Plaquetas en trombocitopenias</p>   | Recuento de plaquetas menor a 100 x 10 <sup>3</sup> / uL  | Analizador Sysmex XN-1000  | Ordinal<br>Discreto | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 50 - 100 x 10<sup>3</sup> / μL</li> <li>• 20 - 50 x 10<sup>3</sup> / μL</li> <li>• &lt; 20 x 10<sup>3</sup> / μL</li> </ul> |
| Presencia de alarmas plaquetarias  | Mensaje cualitativo de interferentes plaquetarios   | Analizador Sysmex XN-1000  | Nominal             | <ul style="list-style-type: none"> <li>• PLT Abn Distribution</li> <li>• PLT Clumps?</li> </ul>  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Volumen plaquetario medio</li> <li>• Fracción de plaquetas inmaduras</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tamaño promedio de las plaquetas.</li> <li>• Porcentaje de plaquetas jóvenes.</li> </ul> | Analizador Sysmex XN-1000  | Razón               | <ul style="list-style-type: none"> <li>• fL</li> <li>• %</li> </ul>  |
| Edad   | Tiempo de vida en años  | DNI  | Discreta            | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Años</li> </ul>   |
| Sexo   | Género sexual   | DNI  | Binaria             | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Masculino</li> <li>• Femenino</li> </ul>  |
| Procedencia  | Lugar del centro hospitalario de donde proviene la muestra  | Historia clínica   | Nominal             | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Hospitalizado</li> <li>• Emergencia</li> <li>• UCI</li> </ul>   |

### **3.5. Procedimientos y Técnicas:**

Se procedió con la siguiente secuencia de trabajo de campo:

#### **a. Trámites administrativos**

Se solicitó permiso a la Oficina de apoyo a la Capacitación, Docencia e Investigación del Hospital Nacional Dos de Mayo, para la ejecución tesis. Esta Oficina cuenta con un Comité de Ética de Investigación.

#### **b. Procesamiento de hemogramas**

Se obtuvo 3 ml de sangre venosa en un tubo de la marca BD Vacutainer con anticoagulante EDTA dipotásico. Antes de la hora de extraída la muestra se procesó en el analizador hematológico Sysmex XN-1000 ubicado en el Servicio de Hematología, Bioquímica y Emergencia del Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica.

Diariamente se procesaron controles internos (XN-check) en tres niveles: bajo, normal y alto. Estos valores participan en un control interlaboratorio (Insight) que es de la misma casa comercial (Roche). Mensualmente se procesan controles externos (EQAS de Biorad). Todos estos controles sirven para validar los resultados obtenidos, ya que proporcionan los datos de exactitud y precisión del analizador.

#### **c. Obtención de datos**

Se realizó la revisión de registros de la base de datos, ingresaron al estudio todas las muestras procesadas en el analizador hematológico Sysmex XN 1000, que tuvieron como solicitud de examen hemograma completo, del 15 de enero al 30 de setiembre del 2018

Se seleccionarán aquellas que presentaron un recuento de plaquetas menor o igual a  $100 \times 10^3/\mu\text{L}$ , mediante el método de impedancia, el cual siguiendo con el protocolo del Departamento se procesan nuevamente mediante el método fluorescente.

En el Software Enterprise, se verificaron los datos de procedencia y edad del paciente, para ver aquellos que cumplían con los criterios de exclusión. Luego los datos de sala de procedencia, sexo y edad del paciente se registraron en la ficha de recolección de datos (ver anexo N° 2). También se anotaron en esta ficha los recuentos de plaquetas mediante los dos métodos y los valores de MPV (volumen plaquetario medio), IPF (fracción de plaquetas inmaduras) y alarmas de las plaquetas del analizador Sysmex XN 1000, los cuales son: PLT Clumps? (agregados plaquetarios) y PLT Abn Distribution (Distribución anormal plaquetaria). Estos datos se obtuvieron de la base de datos del analizador Sysmex XN-1000.

### **3.6. Plan de Análisis de Datos:**

Los datos fueron analizados mediante el programa estadístico SPSS versión 23.0. Se determinarán medidas de tendencia central. Se emplearon tablas de frecuencia y de contingencia. Se determinó la asociación entre variables a través de la prueba chi cuadrado para las variables cualitativas y la prueba t de student, análisis de varianza (ANOVA) y análisis de covarianza para las variables cuantitativas, considerando estadísticamente significativo los valores de  $p < 0,05$ .

## CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 4.1. Resultados

El total de pacientes con trombocitopenia evaluados fue de 335 pacientes, se excluyeron 3 de ellos por presentar agregados plaquetarios al observar en lámina periférica, es decir el número de muestras fue de 332.

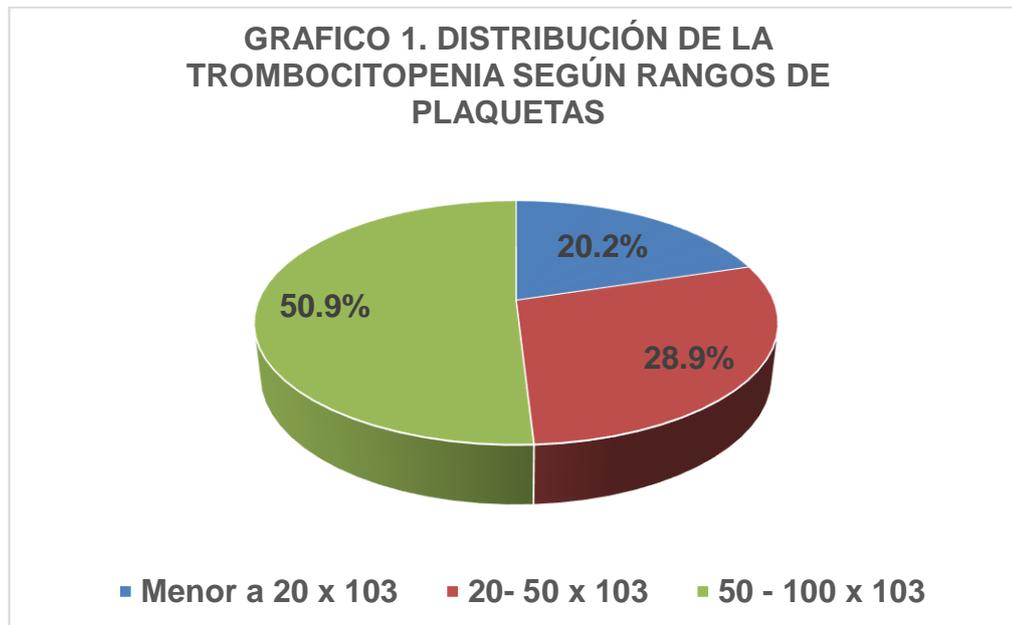
Durante el periodo de recolección de datos, el reporte del control interno (Insight) comparando 347 analizadores a nivel mundial, los coeficiente de variación (CV %) de los parámetros PLT-I, PLT-F, VPM e IPF, estuvieron dentro de lo recomendado que es menor a 10%.

El nivel bajo (L1) del recuento de plaquetas por impedancia presento un CV de 6.6%, menor al CV grupal que fue de 11.3%. El recuento de plaquetas por fluorescencia presento un CV de 2.5% y el grupal 7.5%.

En el caso del volumen plaquetario medio (VPM) el CV para los controles bajo, normal y alto fue de 1.9, 1.3 y 0.7 % menores al grupal que fueron 3.7, 2.3 y 1.8 % respectivamente.

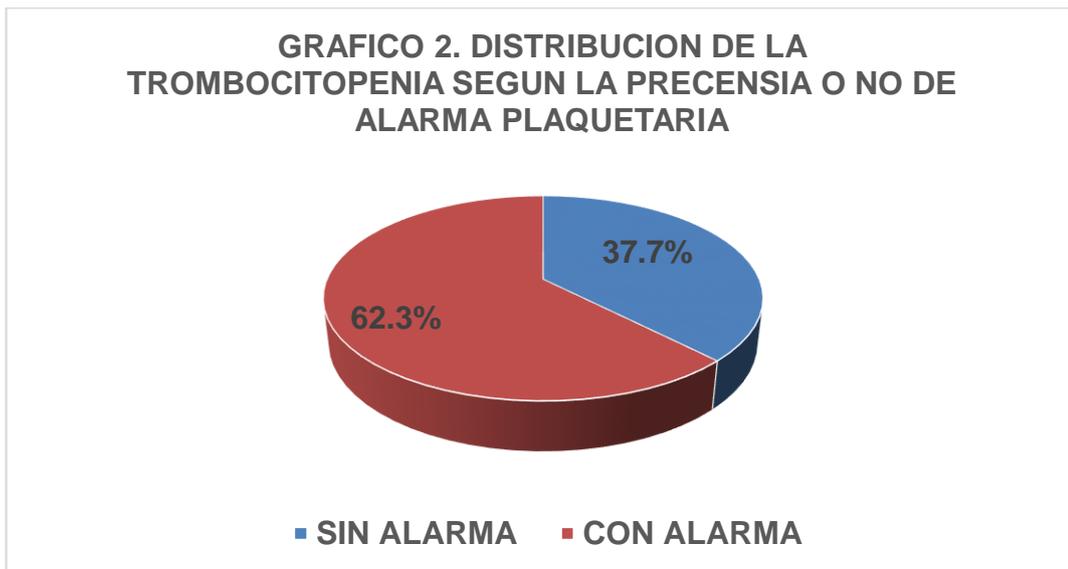
El IPF presento los siguientes CV 2.7, 2.6 Y 2.6 y el grupal fue de 2.7, 2.7 y 3.0 %.

| TABLA 1. DISTRIBUCIÓN DE LA TROMBOCITOPENIA SEGÚN RANGOS DE PLAQUETAS |                              |                           |                            |
|---|------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| RANGO DE PLAQUETAS  | MENOR A $20 \times 10^3$ /uL | 20 - 49 $\times 10^3$ /uL | 50 - 100 $\times 10^3$ /uL |
| N°  | 67                           | 96                        | 169                        |
| %   | 20.2                         | 28.9                      | 50.9                       |



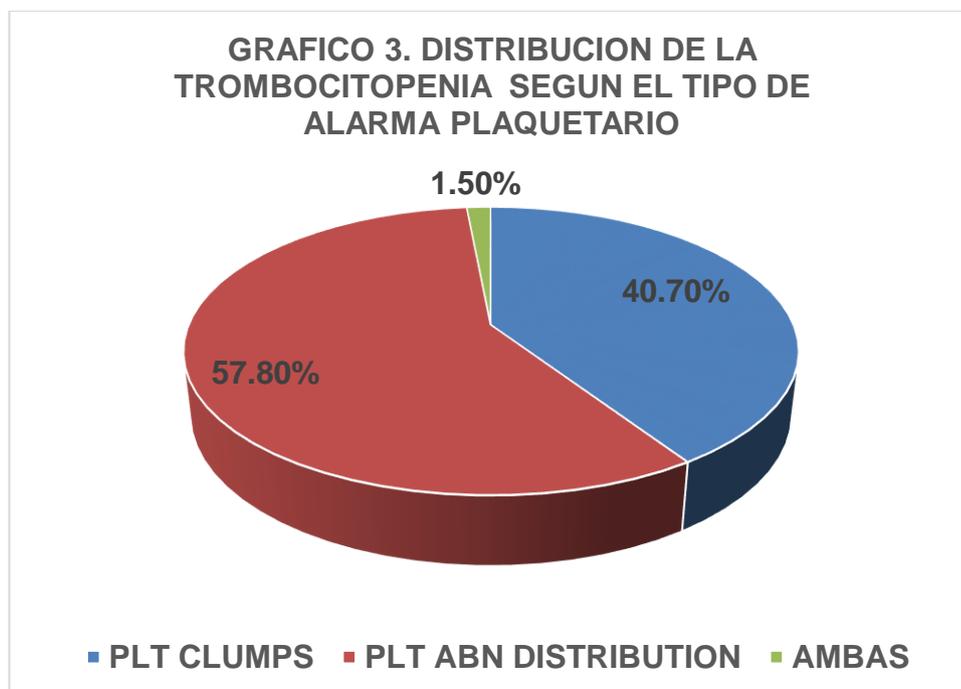
Los valores de los recuentos de plaquetas estuvieron mayormente entre 50 a  $100 \times 10^3$  /uL (50.9 %), luego entre 20 a  $50 \times 10^3$  /uL (28.9 %) y por último menor a  $20 \times 10^3$  /uL. (19.6 %). Tabla 1 y gráfico 1.

| TABLA 2. DISTRIBUCION DE LA TROMBOCITOPENIA SEGÚN LA PRECENCIA O NO DE ALARMA PLAQUETARIA |     |      |
|---|-----|------|
| ALARMA PLAQUETARIA  | N   | %    |
| SIN   | 125 | 37.7 |
| CON   | 207 | 62.3 |



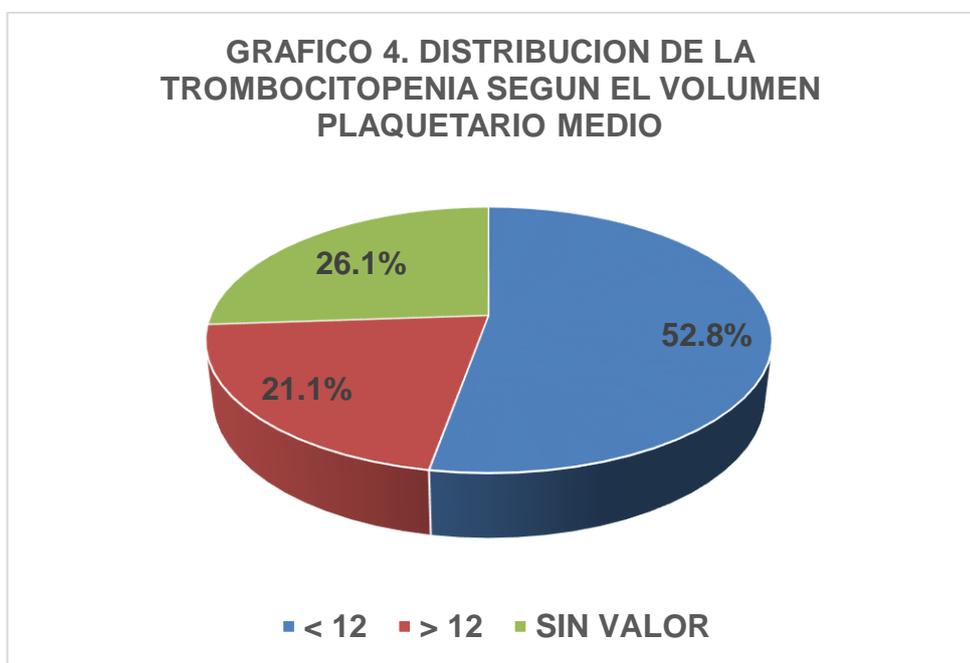
Los pacientes con trombocitopenia presentaron mayormente alguna alarma plaquetaria (62 %) a los que no tuvieron esta alarma (38 %). Tabla 2 y gráfico 2.

| <b>TABLA 3. DISTRIBUCION DE LA TROMBOCITOPENIA SEGÚN EL TIPO DE ALARMA PLAQUETARIA</b> |          |          |
|--|----------|----------|
| <b>ALARMA PLAQUETARIA</b>  | <b>N</b> | <b>%</b> |
| <b>PLT CLUMPS</b>  | 84       | 40.7     |
| <b>PLT ABN DISTRIBUTION</b>  | 119      | 57.8     |
| <b>AMBAS</b>   | 3        | 1.5      |



Del grupo de pacientes con trombocitopenia que presentaron alarma plaquetaria, la que predominó fue la alarma PLT ABN DISTRIBUTION (57.9 %), luego PLT CLUMPS (40.6 %) y ambas alarmas (1.5 %). Tabla 3 y gráfico 3.

| TABLA 4. DISTRIBUCION DE LA TROMBOCITOPENIA SEGÚN EL VOLUMEN PLAQUETARIO MEDIO (VPM) |     |      |
|--|-----|------|
| VPM  | N°  | %    |
| ≤ 12 fl  | 175 | 52.8 |
| > 12 fl  | 70  | 21.1 |
| SIN VALOR  | 87  | 26.1 |

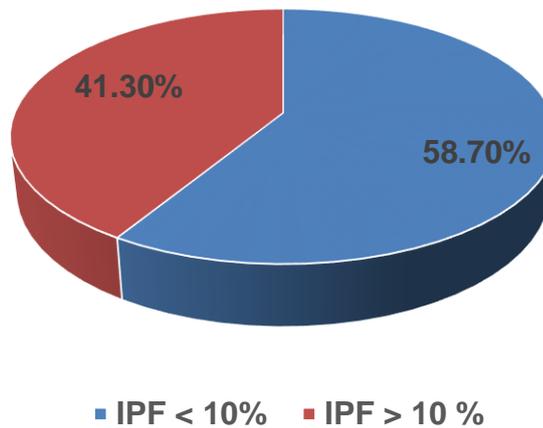


Los pacientes con trombocitopenia tuvieron en su mayoría el volumen plaquetario medio (VPM) menor o igual a 12 fl (52.8 %) a los que tuvieron mayor a 12 fl (21.1 %). Hubo un grupo en quienes el equipo no presento resultados del VPM (26.1 %). Tabla 4 y gráfico 4.

**TABLA 5. DISTRIBUCION DE LA TROMBOCITOPENIA SEGÚN LA FRACCION DE PLAQUETAS INMADURAS (IPF)**

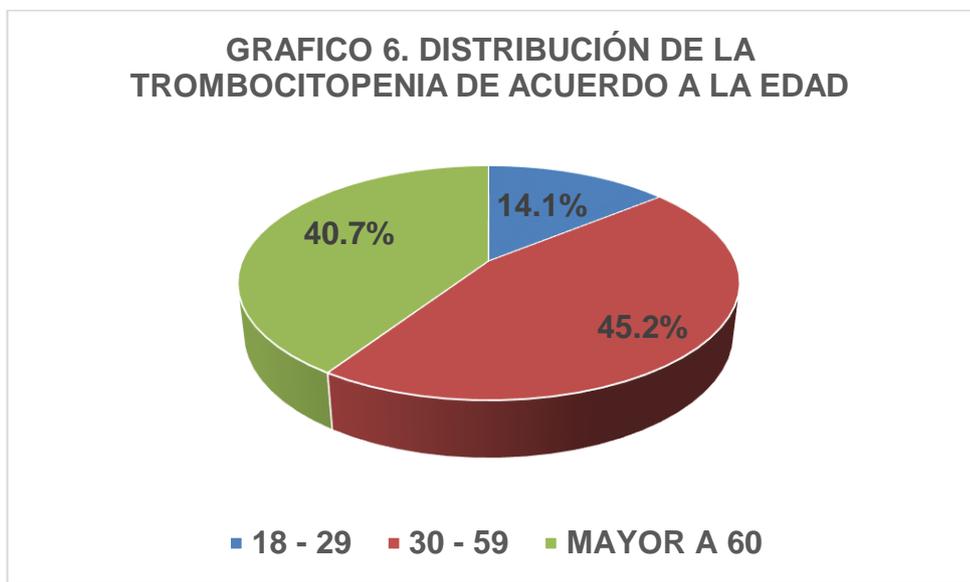
| IPF    | N   | %    |
|--------|-----|------|
| < 10%  | 195 | 58.7 |
| ≥ 10 % | 137 | 41.3 |

**GRAFICO 5. DISTRIBUCION DE LA TROMBOCITOPENIA SEGUN LA FRACCIÓN DE PLAQUETAS INMADURAS**



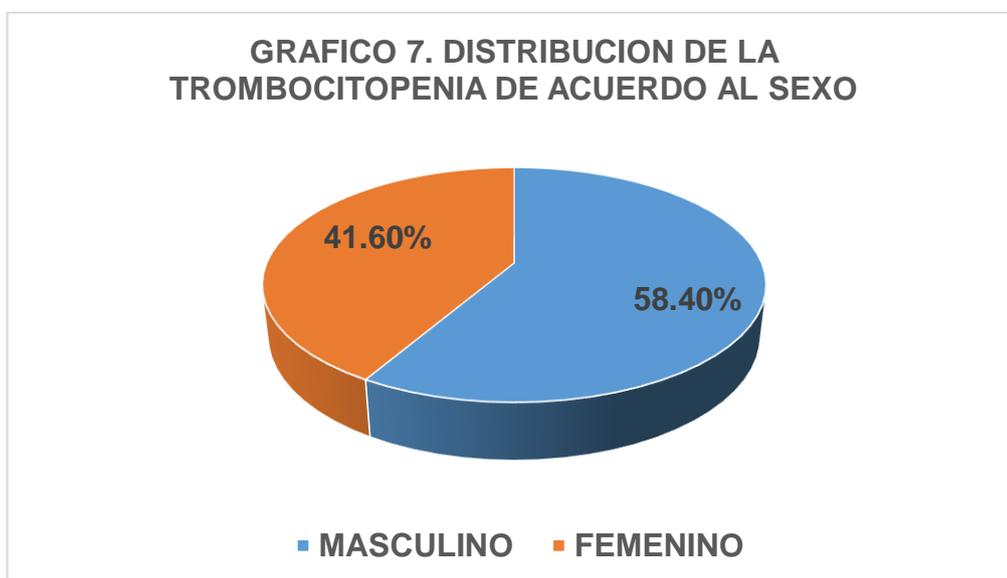
La mayor parte de los pacientes con trombocitopenia tuvieron un valor de fracción de plaquetas inmaduras (IPF) menor a 10% (58.7 %), el grupo con IPF mayor o igual a 10 % fue menor (41.3 %). Tabla 5 y gráfico 5.

| <b>TABLA 6. DISTRIBUCION DE LA TROMBOCITOPENIA DE ACUERDO A LA EDAD</b> |           |          |
|---|-----------|----------|
| <b>EDADES</b>   | <b>N°</b> | <b>%</b> |
| <b>18 – 29</b>  | 47        | 14.1     |
| <b>30 – 59</b>  | 150       | 45.2     |
| <b>MAYOR A 60</b>   | 135       | 40.7     |



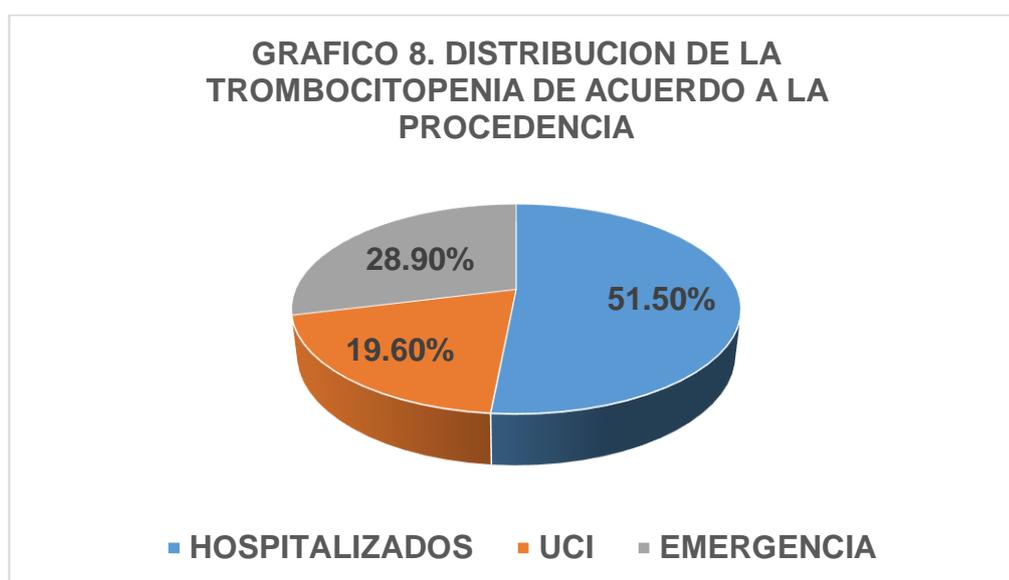
La edad que predominó en los pacientes con trombocitopenia, fue entre 30 a 59 años (45.2 %), luego le siguieron mayor a 60 años (40.7 %) y por último entre 18 a 29 años (14.1 %). Tabla 6 y gráfico 6.

| <b>TABLA 7. DISTRIBUCION DE LA TROMBOCITOPENIA DE ACUERDO AL SEXO</b> |           |          |
|---|-----------|----------|
| <b>SEXO</b>   | <b>N°</b> | <b>%</b> |
| <b>MASCULINO</b>  | 194       | 58.4     |
| <b>FEMENINO</b>   | 138       | 41.6     |
| <b>TOTAL</b>  | 332       | 100.0    |



El sexo que predominó en los pacientes con trombocitopenia, fue el masculino (58.4 %) a comparación del femenino (41.6 %). Tabla 7 y gráfico 7.

| <b>TABLA 8. DISTRIBUCION DE LA TROMBOCITOPENIA DE ACUERDO A LA PROCEDENCIA</b> |           |          |
|--|-----------|----------|
| <b>PROCEDENCIA</b>   | <b>N°</b> | <b>%</b> |
| <b>HOSPITALIZADOS</b>  | 171       | 51.5     |
| <b>EMERGENCIA</b>  | 96        | 28.9     |
| <b>UCI</b>   | 65        | 19.6     |
| <b>TOTAL</b>   | 332       | 100.0    |



La mayoría de pacientes con trombocitopenia, procedieron del área de hospitalizados (51.5 %), luego le sigue emergencia (28.9 %) y por último de la unidad de cuidados intensivos - UCI (19.6 %). Tabla 8 y gráfico 8.

| <b>TABLA 9. COMPARACIÓN DEL RECuento DE PLAQUETAS POR RANGOS</b> |  |  |                    |
|--|--|--|--------------------|
| <b>RANGO DE PLAQUETAS</b>  | <b>PLT-I<br/>x 10<sup>3</sup> /<math>\mu</math>L</b> | <b>PLT-F<br/>x 10<sup>3</sup> /<math>\mu</math>L</b> | <b>Valor p (*)</b> |
| <b>GENERAL</b>   | 51.3 $\pm$ 29.1                                      | 52.4 $\pm$ 29.8                                      | 0.61               |
| <b>MENOR A 20<br/>x 10<sup>3</sup> /<math>\mu</math>L</b>        | 11.3 $\pm$ 5.2                                       | 11.5 $\pm$ 6.8                                       | 0.89               |
| <b>20 – 49<br/>x 10<sup>3</sup> /<math>\mu</math>L</b>           | 36.5 $\pm$ 7.9                                       | 36.8 $\pm$ 10.0                                      | 0.80               |
| <b>50 -100<br/>x 10<sup>3</sup> /<math>\mu</math>L</b>           | 75.5 $\pm$ 13.8                                      | 77.5 $\pm$ 15.1                                      | 0.20               |
| <b>* p significativo &lt; 0.05<br/>t de Student</b>              |  |  |                    |

La media y la desviación estándar del recuento de plaquetas por impedancia (PLT-I) fue de 51.3  $\pm$  29.1 x 10<sup>3</sup> / $\mu$ L, el de fluorescencia (PLT-F) 52.4  $\pm$  29.8 x 10<sup>3</sup> / $\mu$ L, quiere decir que el método de impedancia en promedio da valores más bajos de plaquetas.

Cuando se realizó la prueba de t de Student, para comparar medias, el valor de p fue de 0.61, es decir que no hubo diferencia significativa, en los recuentos por ambas metodologías.

De igual manera se realizó el mismo análisis por rangos de plaquetas (entre 50 - 100, 20 - 50 y menor a 20 x 10<sup>3</sup> / $\mu$ L), produciendo los mismos resultados de no diferencia significativa. Tabla 9.

| <b>TABLA 10. COMPARACIÓN DEL RECuento DE PLAQUETAS POR EL IPF</b> |                                       |                                       |                    |
|---|---------------------------------------|---------------------------------------|--------------------|
| <b>IPF</b>  | <b>PLT-I<br/>x 10<sup>3</sup> /uL</b> | <b>PLT-F<br/>x 10<sup>3</sup> /uL</b> | <b>Valor p (*)</b> |
| <b>&lt; 10%</b>   | 57.4 ± 27.5                           | 58.3 ± 29.0                           | 0.74               |
| <b>≥ 10 %</b>   | 42.6 + 27.5                           | 44.0 + 28.8                           | 0.67               |
| <b>* p significativo &lt; 0.05<br/>t de Student</b>               |                                       |                                       |                    |

Los recuentos de plaquetas en general por ambos métodos impedancia y fluorescencia no tuvieron diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) cuando el valor de la fracción de plaquetas inmaduras (IPF) fue menor a 10% o mayor o igual a 10%. Cuando el valor de IPF  $\geq 10\%$  los promedios de recuentos de plaqueta fueron menores. Tabla 10.

| <b>TABLA 11. COMPARACIÓN DEL RECuento DE PLAQUETAS POR EL VPM</b> |                                       |                                       |                    |
|---|---------------------------------------|---------------------------------------|--------------------|
| <b>VPM</b>  | <b>PLT-I<br/>x 10<sup>3</sup> /μL</b> | <b>PLT-F<br/>x 10<sup>3</sup> /μL</b> | <b>Valor p (*)</b> |
| <b>≤ 12</b>   | 58.2 ± 27.4                           | 59.9 ± 28.8                           | 0.56               |
| <b>&gt; 12</b>  | 57.4 ± 25.1                           | 58.0 ± 26.3                           | 0.88               |
| <b>SIN VALOR</b>  | 32.5 ± 24.4                           | 32.9 ± 25.4                           | 0.92               |
| <b>* p significativo &lt; 0.05<br/>t de Student</b>               |                                       |                                       |                    |

Los recuentos de plaquetas en general por ambos métodos impedancia y fluorescencia no tuvieron diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) cuando el valor del volumen plaquetario fue menor o igual a 12 fl, mayor a 12 fl o el equipo no reporto el valor. Las muestras no tuvieron valor de VPM tuvieron menores promedios de recuentos de plaqueta. Tabla 11.

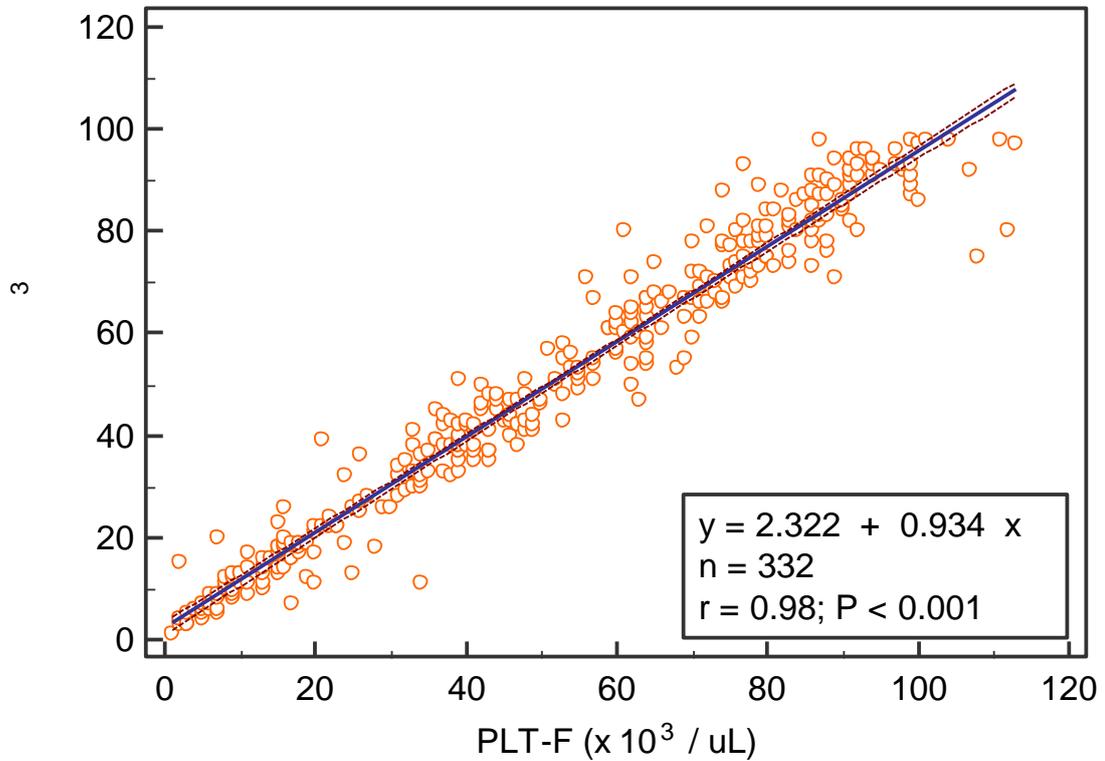
| <b>TABLA 12. COMPARACIÓN DEL RECUESTO DE PLAQUETAS POR LA PRECENCIA DE ALARMA</b> |  |  |                    |
|---|--|--|--------------------|
| <b>ALARMA</b>   | <b>PLT-I<br/>x 10<sup>3</sup> /<math>\mu</math>L</b> | <b>PLT-F<br/>x 10<sup>3</sup> /<math>\mu</math>L</b> | <b>Valor p (*)</b> |
| <b>SIN</b>  | 57.3 $\pm$ 26.5                                      | 58.9 $\pm$ 27.7                                      | 0.65               |
| <b>CON</b>  | 47.5 $\pm$ 28.9                                      | 48.5 $\pm$ 30.4                                      | 0.75               |
| <b>* p significativo &lt; 0.05<br/>t de Student</b>                               |  |  |                    |

Los recuentos de plaquetas en general por ambos métodos impedancia y fluorescencia no tuvieron diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) cuando el equipo presento o no alarma plaquetaria. Las muestras que presentaron una alarma plaquetaria tuvieron menores promedios de recuentos de plaqueta. Tabla 12

| <b>TABLA 13. COMPARACIÓN DEL RECUESTO DE PLAQUETAS POR EL TIPO DE ALARMA</b> |  |  |                    |
|--|--|--|--------------------|
| <b>TIPO ALARMA</b>   | <b>PLT-I<br/>x 10<sup>3</sup> /<math>\mu</math>L</b> | <b>PLT-F<br/>x 10<sup>3</sup> /<math>\mu</math>L</b> | <b>Valor p (*)</b> |
| <b>PLT CLUMPS</b>  | 62.8 + 24.9  | 64.5 + 25.9  | 0.65               |
| <b>PLT ABN<br/>DISTRIBUTION</b>  | 36.9 + 26.7  | 37.5 + 28.0  | 0.86               |
| <b>AMBAS</b>   | 41.0 + 39.9  | 36.0 + 44.3  | 0.89               |
| <b>* p significativo &lt; 0.05<br/>t de Student</b>                          |  |  |                    |

Los recuentos de plaquetas en general por ambos métodos impedancia y fluorescencia no tuvieron diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) cuando el equipo presento las alarmas plaquetarias. Las muestras que presentaron la alarma de PLT ABN DISTRIBUTION tuvieron menores promedios de recuentos de plaqueta. Tabla 13.

**GRAFICA 9. REGRESIÓN DEL RECuento DE PLAQUETAS**



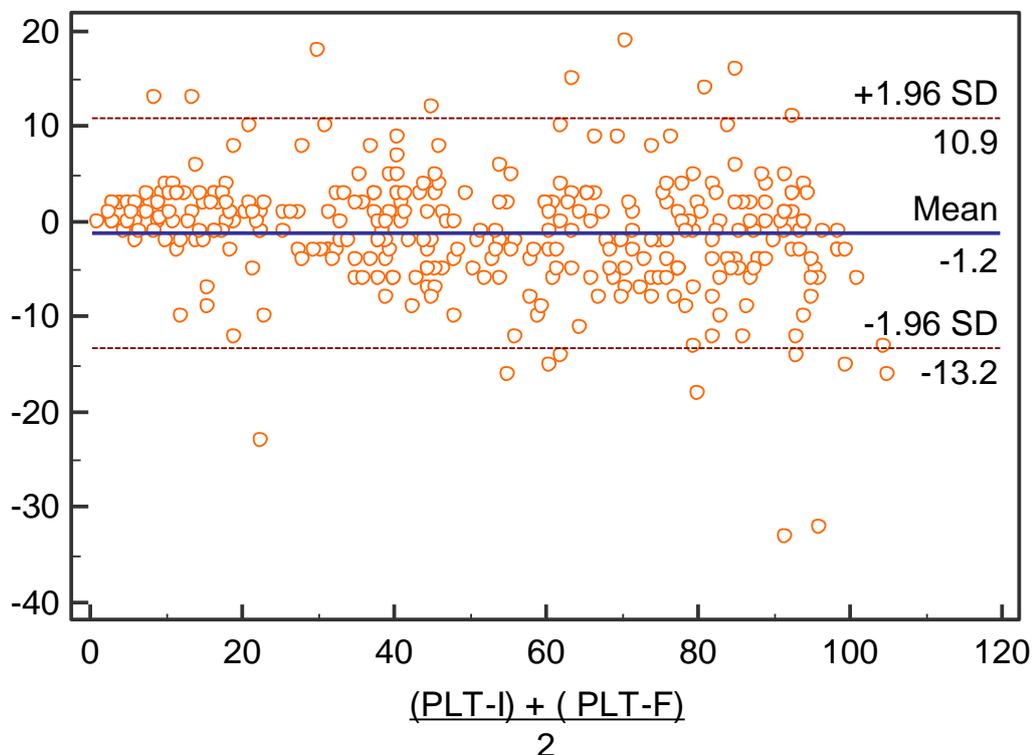
El coeficiente de correlación de Pearson del recuento de plaquetas por impedancia (PLT-I) y fluorescencia (PLT-F) fue de 0.978, lo que quiere decir que se puede utilizar las gráficas de regresión.

Esta gráfica presento la ecuación  $\text{PLT-I} = 2.322 + 0.934 (\text{PLT-F})$ , con un intercepto de  $2.322 \times 10^3$  / $\mu\text{L}$  y una pendiente de  $0.934 \times 10^3$  / $\mu\text{L}$ , el r fue de 0.98. Grafico 9.

| <b>TABLA 14. Valores de error sistemático obtenidos por el método PLT-I en función de niveles de decisión clínica para las plaquetas</b> |  |   |                            |
|--|--|---|----------------------------|
| <b>Niveles críticos<br/>x 10<sup>3</sup> /uL</b>   | <b>PLT-I =<br/>2.322 +<br/>0.934. (PLT-<br/>F)</b> | <b>Error sistemático<br/>x 10<sup>3</sup> /μL</b> | <b>Error sistemático %</b> |
| 100  | 95.7   | 4.3   | 4.3                        |
| 50   | 49.0   | 1.0   | 2.0                        |
| 20   | 21.0   | 1.0   | 5.0                        |
| 10   | 11.6   | 1.6   | 16.0                       |

Con los datos de la ecuación de la gráfica de regresión se realizó los cálculos para cuatro niveles críticos del recuento de plaquetas. En todos los casos el error sistemático porcentual fue menor a 25 %, es decir cumple con el requisito de calidad establecido por CLIA, que indican un error máximo permitido de 25 % para plaquetas. Tabla 14.

**GRAFICA 10. DIFERENCIAS DEL RECuento DE PLAQUETAS**

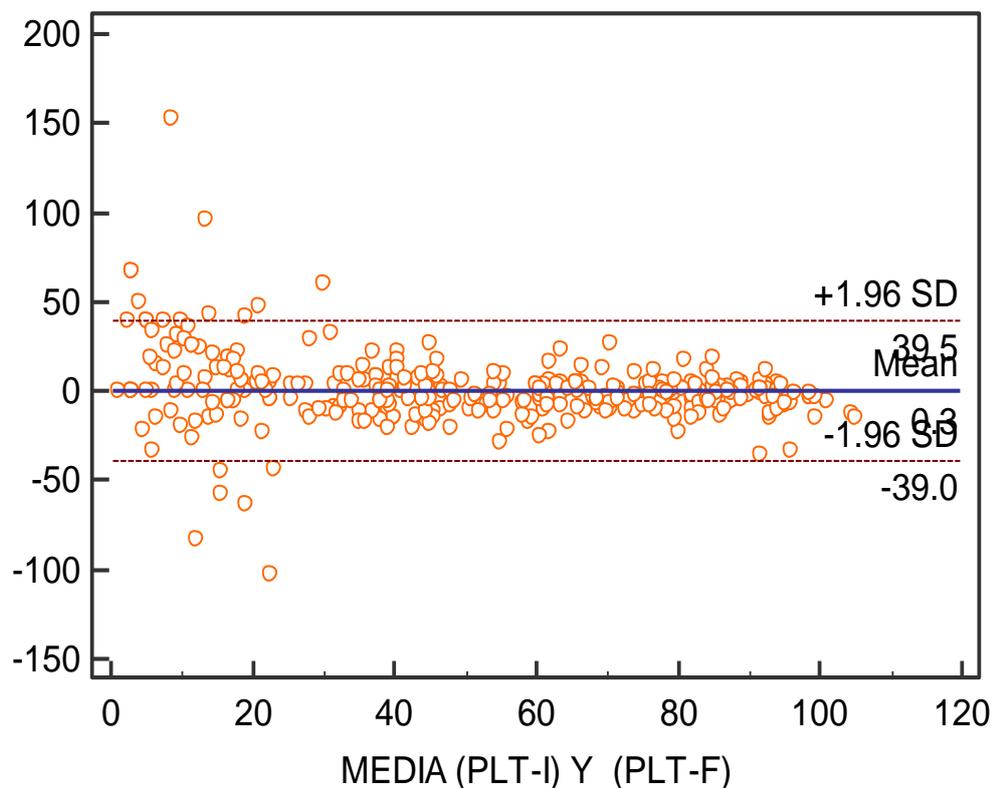


La grafica de diferencias de Bland-Altman, muestra un error promedio (sesgo sistemático) de  $-1.2 \times 10^3$  /uL, con un límite entre  $-13.2$  a  $10.9 \times 10^3$  /uL.

Hubo errores en ambos lados de la banda, en forma proporcional, en todos los rangos de recuento de plaquetas.

Del total (332), 19 recuentos (5.7 %) se encuentran por fuera de la banda media de las diferencias  $\pm 1.96$  desviación estándar. Grafico 10.

GRAFICA 11. DIFERENCIA % DEL RECuento DE PLAQUETAS



La grafica de diferencias de Bland-Altman, muestra un error porcentual de 0.3%, con un límite entre -39.0 % y 39.5 %.

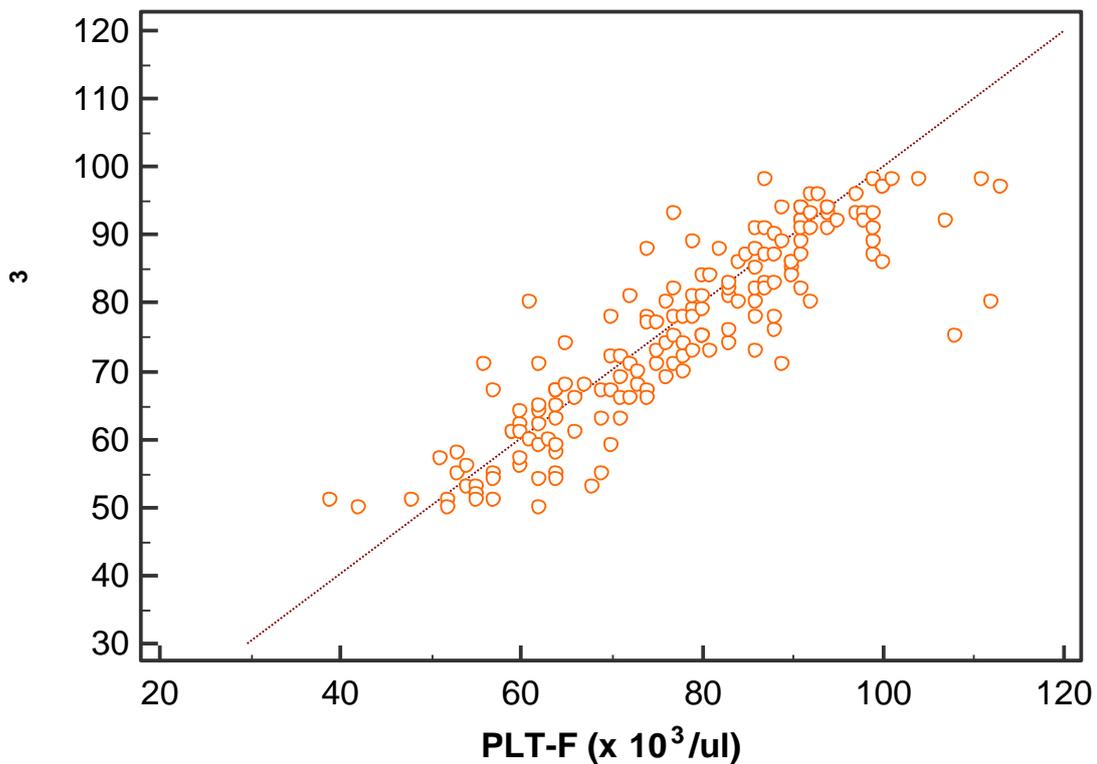
Hubo errores en ambos lados de la banda, en forma proporcional, en el rango de recuento de plaquetas menores a  $50 \times 10^3 /\mu\text{L}$ .

Del total (332), 20 recuentos (6.0 %) se encuentran por fuera de la banda media de las diferencia porcentual  $\pm 1.96$  desviación estándar. Grafico 11.

| <b>TABLA 15. RECuentOS DE PLAQUETAS CON UNA MEDIA DE DIFERENCIA PORCENTUAL <math>\pm 1.96</math> DE</b> |              |              |            |              |            |            |               |
|---|--------------|--------------|------------|--------------|------------|------------|---------------|
| <b>CODIGO</b>   | <b>PLT-F</b> | <b>PLT-I</b> | <b>DIF</b> | <b>DIF %</b> | <b>IPF</b> | <b>VPM</b> | <b>ALARMA</b> |
| <b>6</b>  | 34           | 11           | -23        | -102.2       | 32.5       | N          | A             |
| <b>19</b>   | 3            | 5            | 2          | 50.0         | 3.4        | 11.1       | NO            |
| <b>22</b>   | 20           | 11           | -9         | -58.1        | 18.1       | N          | A             |
| <b>31</b>   | 4            | 6            | 2          | 40.0         | 2.6        | 9.2        | NO            |
| <b>37</b>   | 8            | 12           | 4          | 40.0         | 1.9        | 10.4       | A             |
| <b>52</b>   | 2            | 4            | 2          | 66.7         | 9.7        | 10.4       | A             |
| <b>86</b>   | 19           | 12           | -7         | -45.2        | 51.0       | N          | A             |
| <b>107</b>  | 6            | 9            | 3          | 40.0         | 15.3       | N          | A             |
| <b>115</b>  | 25           | 13           | -12        | -63.2        | 27.9       | N          | A             |
| <b>138</b>  | 28           | 18           | -10        | -43.5        | 33.2       | N          | A             |
| <b>148</b>  | 4            | 6            | 2          | 40.0         | 11.9       | N          | A             |
| <b>182</b>  | 7            | 20           | 13         | 96.3         | 32.2       | N          | A Y B         |
| <b>242</b>  | 17           | 7            | -10        | -83.3        | 33.7       | N          | A             |
| <b>259</b>  | 11           | 17           | 6          | 42.9         | 4.2        | 8.7        | B             |
| <b>260</b>  | 2            | 4            | 2          | 66.7         | 14.6       | N          | A             |
| <b>262</b>  | 2            | 15           | 13         | 152.9        | 12.3       | N          | A             |
| <b>272</b>  | 16           | 26           | 10         | 47.6         | 5.4        | 14         | A             |
| <b>277</b>  | 21           | 39           | 18         | 60.0         | 7.2        | N          | A             |
| <b>295</b>  | 15           | 23           | 8          | 42.1         | 13.8       | N          | A             |
| <b>325</b>  | 2            | 3            | 1          | 40.0         | 3.6        | N          | A             |
| A. PLT ABN DISTRIBUTION<br>B. PLT CLUMPS  |              |              |            |              |            |            |               |

Analizando individualmente estos 20 puntos, vemos en todas que el recuento de plaquetas fue menor a  $50 \times 10^3 /\mu\text{L}$ , las diferencia porcentual están en el rango de -102.2 a 152.9 %, el valor de IPF fue mayor a 10 % en 12 casos (60 %), no hubo reporte de VPM en 15 casos (75 %) y 18 presentaron una alarma plaquetaria (90%), predominando la alarma PLT ABN DISTRIBUTION en 17 de ellos. Tabla 15.

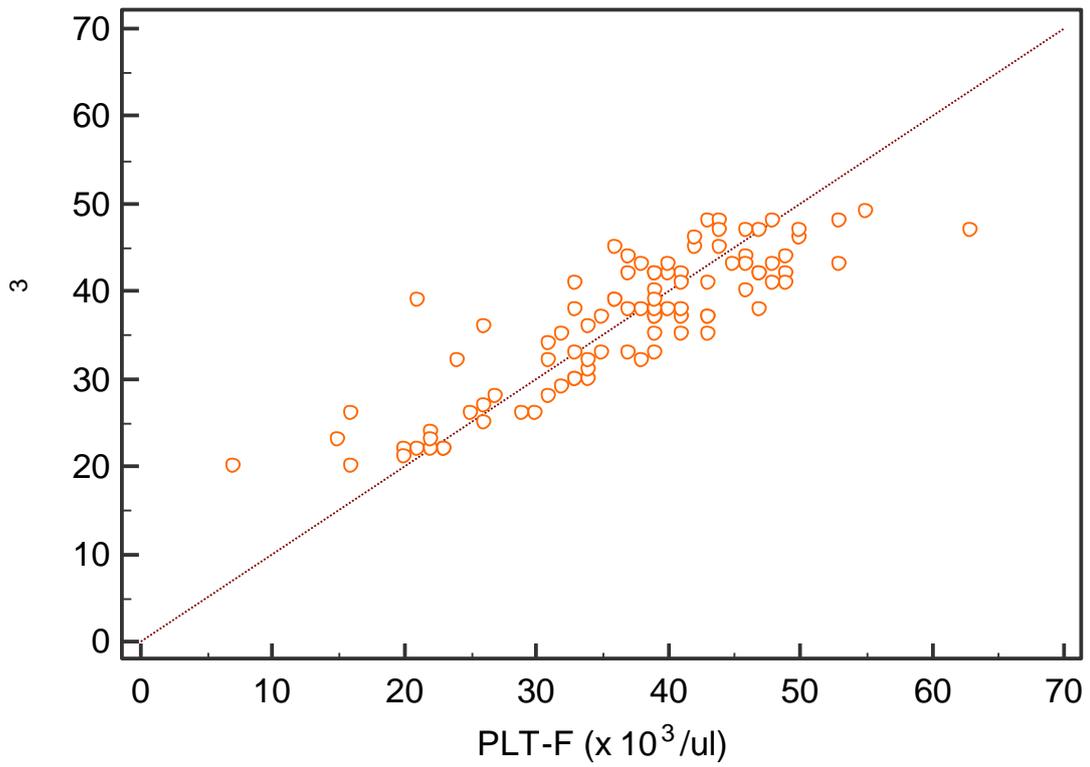
**GRAFICO 12. CORRELACION PLAQUETAS 50-100 x 10<sup>3</sup>/ul**



|                            |                 |
|----------------------------|-----------------|
| <b>Numero de muestras</b>  | 169             |
| <b>r</b>                   | 0.8850          |
| <b>IC 95%</b>              | 0.8472 a 0.9138 |
| <b>Valor significancia</b> | P<0.0001        |

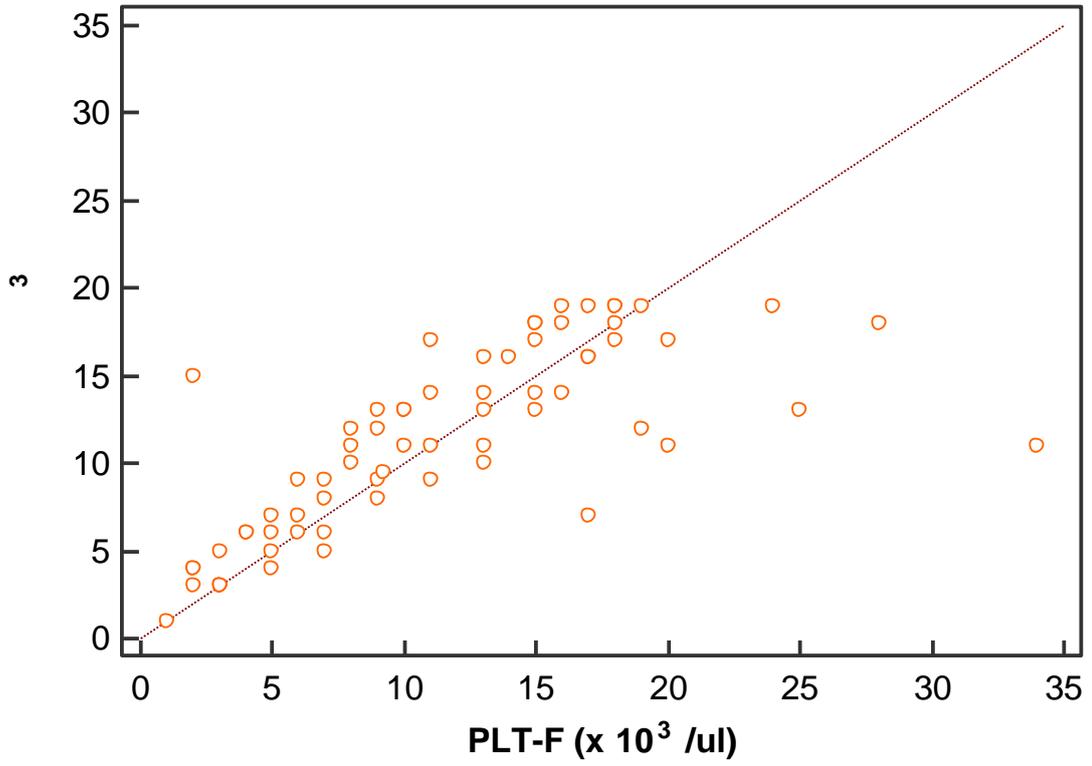
En el estudio de correlación por rangos de recuento de plaquetas (50-100, 20-49 y menor a 20 x 10<sup>3</sup>/uL), se observa que a medida que esta disminuye el r también es menor (0.89, 0.79 y 0.73 respectivamente). Grafico 12, 13 y 14.

**GRAFICO 13. CORRELACIÓN PLAQUETAS 20-50 x 10<sup>3</sup>/ul**



|                            |                 |
|----------------------------|-----------------|
| <b>Numero de muestras</b>  | 96              |
| <b>R</b>                   | 0.8609          |
| <b>IC 95%</b>              | 0.7981 a 0.9051 |
| <b>Valor significancia</b> | P<0.0001        |

**GRAFICO 14. CORRELACION DE PLAQUETAS <20 x10<sup>3</sup>/ul**



|                            |                 |
|----------------------------|-----------------|
| <b>Numero de muestras</b>  | 67              |
| <b>R</b>                   | 0.7282          |
| <b>IC 95%</b>              | 0.5914 a 0.8242 |
| <b>Valor significancia</b> | P<0.0001        |

## 4.2. Discusión

- En nuestro estudio se demostró que existe buena correlación para el recuento de trombocitopenias utilizando los métodos de impedancia y fluorescencia en el analizador hematológico XN1000. Estos resultados son diferentes al estudio de Segal y colaboradores, quienes reportaron que el método de impedancia tiende a sobrestimar el recuento plaquetario que el óptico. Aunque este último método es una generación anterior al de fluorescencia.
- El estudio actual comprueba y demuestra lo encontrado en el trabajo realizado por Congona Rivera que menciona que el recuento de plaquetas por impedancia como citometría de fluorescencia correlacionan muy bien con el método referencia internacional, también menciona una diferencia que el método óptico sobreestima el recuento plaquetario pero cabe destacar que es una población de pacientes oncológicos muy distintos a la mayoría de muestras de nuestro estudio.
- Podemos afirmar que nuestro trabajo presenta buena correlación con el estudio realizado por Oomes J, van Pelt. Titulado el nuevo método de fluorescencia en el analizador XN 2000, este estudio reveló que hay buena reproducibilidad del nuevo método de fluorescencia en recuento de plaquetas por debajo de  $50 \times 10^3 /\mu\text{L}$  y estos datos fueron consistentes con los datos publicados recientemente por Briggs et al.
- Nuestro trabajo también está sustentado por lo encontrado por Tanaka Y, Tanaka Y, Gondo K, Maruki Y, Kondo T, Asai S, Matsushita H, Miyachi H. donde demostraron que el rendimiento del conteo de plaquetas del nuevo

canal PLT-F mejoro la precisión en el rango bajo y en muestras anormales , evitando la interferencia de partículas no plaquetarias

- El estudio de regresión mostro una excelente correlación entre ambos métodos con un r de 0.98. Estos resultados son similares a lo reportado por Tanaka y colaboradores, quienes calcularon un r de 0.99 y de Schoorl y colaboradores que fue de 0.96.
- En el caso de recuento de plaquetas menores a  $50 \times 10^3 / \mu\text{L}$ , la correlación disminuye hasta un r de 0.79, idéntico a lo reportado por Kummel y colaboradores, lo cual indica que a recuentos más bajos existiría una mayor diferencia entre los recuentos por impedancia y fluorescencia.

### 4.3. Conclusiones

- No existe diferencia entre el recuento de plaquetas mediante los métodos de impedancia y fluorescencia, en pacientes con trombocitopenia del Hospital Nacional Dos de Mayo, Lima 2018.
- En forma general según el rango plaquetario hubo una buena correlación en el recuento de las trombocitopenias, pero esta relación se pierde mínimamente conforme disminuye el número de las plaquetas esto sucedía alrededor de recuentos menores a  $50 \times 10^3 /\mu\text{L}$ .
- La presencia o no de alarma no influyo en la diferencia de recuento de ambos métodos, pero las muestras que tuvieron la alarma plt abn distribution evidenciaron cierto grado de discordancia en el recuento plaquetario.
- El valor del volumen plaquetario medio no influyo en la diferencia de recuento por ambos métodos y valor de la fracción de plaquetas inmaduras tampoco influyo en la diferencia de recuento por ambos metodos.
- Los pacientes con trombocitopenia, en su mayoría estuvieron en el rango de 30 a 60 años, fueron de ambos sexos predominando el masculino y procedían principalmente del área de hospitalizados.

#### 4.4. Recomendaciones

- Por el presente estudio sabemos que no hay diferencias entre el método de impedancia y fluorescencia, por lo tanto se recomienda realizar el recuento plaquetario por el método de impedancia para todas las muestras hematológicas, teniendo el analizador hematológico controlado y calibrado para garantizar los resultados.
- Como se demuestra hay buena correlación entre los rangos plaquetarios, no obstante se sugiere, utilizar el método de fluorescencia para recuentos menores a  $50 \times 10^3 / \mu\text{L}$ , como hemos evidenciado a menor números de plaquetas la relación disminuye.
- Capacitar a todo el personal encargado del área de hematología en el manejo del equipo hematológico XN 1000.
- Debe redactarse un protocolo de trabajo
- Tener en cuenta las alarmas que nos proporciona el equipo hematológico XN 1000 , sobre todo si hay presencia de agregados plaquetarios , se tiene que verificar en lamina periférica
- Tener profesionales capacitados en la parte pre- analítica, pues esto nos garantiza una buena toma de muestra y así poder .reportar resultados de calidad.

- Si bien es cierto la edad y el sexo son datos que tenemos que tener en cuenta en los pacientes con trombocitopenia, se recomienda tener presente la procedencia, sobre todo con los hospitalizados porque generalmente son controlados en el recuento plaquetario.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rodak B. 2004. Hematología. Fundamentos y aplicaciones clínicas. Editorial médica panamericana, Buenos Aires, Argentina, pp 85.-90
2. Campuzano MG. Trombocitopenia: más importante que encontrarla es saber porqué se presenta. *Clínica & Laboratorio*. 2007; 13 (3-4):111-152.
3. Ali N, Auerbach HE. New-onset acute thrombocytopenia in hospitalized patients: pathophysiology and diagnostic approach. *J Community Hosp Intern Med Perspect*. 2017. 13 (7):157-167. doi: 10.1080/20009666.2017.1335156.
4. Briggs C, Harrison P, Machin SJ. Continuing developments with the automated platelet count. *Int J Lab Hematol*. 2007; 29(2):77-91.
5. Seo JY, Lee ST, Kim SH. Performance evaluation of the new hematology analyzer Sysmex XN-series. *Int J Lab Hematol*. 2015; 37(2):155-64. doi: 10.1111/ijlh.12254. Epub 2014 May 12.
6. Rivadeneyra Leonardo, Ivani Paola Carla, Schattner Mirta, Pozner Roberto Gabriel. Así comienza la vida plaquetaria: un viaje desde los megacariocitos medulares a las plaquetas circulantes. *Acta bioquím. clín. latinoam*. [Internet]. 2016 Jun [citado 2018 Mayo 15]; 50( 2 ): 233-245. Disponible en: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0325-29572016000200008&lng=es](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572016000200008&lng=es).
7. Zandecki M, Genevieve F, Gerard J, Godon A. Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part I: platelets. *Int J Lab Hematol*. 2007; 29(1):4-20.
8. Wada A, Takagi Y, Kono M, Morikawa T. Accuracy of a New Platelet Count System (PLT-F) Depends on the Staining Property of Its Reagents. *PLoS One*. 2015. 23; 10(10). doi: 10.1371/journal.pone.0141311. eCollection 2015.
9. Briggs C, Longair I, Kumar P, Singh D, Machin SJ. Performance evaluation of

the Sysmex haematology XN modular system. *J Clin Pathol.* 2012; 65(11):1024-30. doi: 10.1136/jclinpath-2012-200930. Epub 2012 Jul 31.

10. Sysmex Corporation. Japon XN series. Instrucciones de uso. 2010-12

11. Imperiali CE, Arbiol-Roca A, Sanchez-Navarro L, Dastis-Arias M, Lopez-Delgado JC, Cortes-Bosch A, Sancho-Cerro A, Dot-Bach D. Reference interval for immature platelet fraction on Sysmex XN haematology analyser in adult population. *Biochem Med (Zagreb).* 2018 15; 28(1):010708.

12. Sandhaus LM, Osei ES, Agrawal NN, Dillman CA, Meyerson HJ. Platelet counting by the coulter LH 750, sysmex XE 2100, and advia 120: a comparative analysis using the RBC/platelet ratio reference method. *Am J Clin Pathol.*2002; 118(2):235-41.

13. Segal HC, Briggs C, Kunka S, Casbard A, Harrison P, Machin SJ, Murphy MF. Accuracy of platelet counting haematology analysers in severe thrombocytopenia and potential impact on platelet transfusion. *Br J Haematol.* 2005; 128(4):520-5.

14. Bowles KM, Bloxham DM, Perry DJ, Baglin TP. Discrepancy between impedance and immunofluorescence platelet counting has implications for clinical decision making in patients with idiopathic thrombocytopenia purpura. *Br J Haematol.* 2006; 134(3):320-2.

15. Kim SY, Kim JE, Kim HK, Han KS, Toh CH. Accuracy of platelet counting by automated hematologic analyzers in acute leukemia and disseminated intravascular coagulation: potential effects of platelet activation. *Am J Clin Pathol.* 2010;134(4):634-47. doi: 10.1309/AJCP88JYLRCRXPP.

16. Schoorl M, Schoorl M, Oomes J, van Pelt J. New fluorescent method (PLT-F) on Sysmex XN2000 hematology analyzer achieved higher accuracy in low platelet counting. *Am J Clin Pathol.* 2013;140(4):495-9. doi: 10.1309/AJCPUAGGB4URL5XO.

17. Tanaka Y, Tanaka Y, Gondo K, Maruki Y, Kondo T, Asai S, Matsushita H, Miyachi H. Performance evaluation of platelet counting by novel fluorescent dye staining in the XN-series automated hematology analyzers. *J Clin Lab Anal.* 2014; 28(5):341-8. doi: 10.1002/jcla.21691. Epub 2014 Mar 19.
18. Mohamed-Rachid B, Raya A, Sulaiman A, Hamad A, Hammad K, Salam A. Accuracy of Platelet Counting by Optical and Impedance Methods in Patients with Thrombocytopaenia and Microcytosis. *Sultan Qaboos Univ Med J.* 2015; 15(4): e463–e468.
19. Tantanate C, Khowawisetsut L, Pattanapanyasat K. Performance Evaluation of Automated Impedance and Optical Fluorescence Platelet Counts Compared With International Reference Method in Patients With Thalassemia. *Arch Pathol Lab Med.* 2017; 141(6):830-836. Epub 2017 Apr 12.
20. Congona Rivera, 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 para optar el título profesional de Licenciado en Tecnología Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica. Lima-Perú. 2011.
21. Reyes Rojas, J. Recuento plaquetario y sus índices en casos con diagnóstico de Leucemia Mieloide Crónica (LMC), durante agosto 2013 – mayo 2014, Instituto Nacional de enfermedades neoplásicas. Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica. Lima – Perú. 2015.
22. Salto A, Fontana S, Marquesoni E, Casale M. Valoración de índices plaquetarios en las trombocitopenias. *Acta bioquím. clín. latinoam.* 2012; 46(1): 23-30.
23. Hummel K, Sachse M, Hoffmann JJML, van Dun LPJM. Comparative evaluation of platelet counts in two hematology analyzers and potential effects on prophylactic platelet transfusion decisions. *Transfusion.* 2018 ;58(10):2301-2308. doi: 10.1111/trf.14886. Epub 2018 Sep 17.

24. Sysmex Corporation. Japon XN series. Serie XS. Reporte de casos clínicos. 2008.

25. Hawkins J, Gulati G, Uppal G, Gong J. Assessment of the Reliability of the Sysmex XE-5000 Analyzer to Detect Platelet Clumps. Lab Med. 2016; 47(3):189-94. doi: 10.1093/labmed/lmw016. Epub 2016 Apr 25.

# **ANEXOS**

## ANEXO N° 1

### CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 \times p \times q}{d^2}$$

Dónde:

$Z_{\alpha}^2$  : Nivel de Confianza (escala de 1 DE para un IC de 95% ( $1,96^2$ ))

p : Proporción esperada.  $p = 0,08$  (8.0 %)

q : Complemento de la proporción ( $1 - p = 1 - 0.008 = 0.92$ )

d : Margen de error (5% = 0,05)

Entonces tenemos:

$$n = \frac{1.96^2 \times 0.08 \times 0.92}{0.05^2}$$

$$0.05^2$$

$$n = 113$$

Agregando el 10% de la muestra para casos de pérdidas u otros:

$$n = 113 + 10\% (113)$$

$$n = 113 + 11.3$$

$$n = 124.2$$

**n = 125 muestras para el estudio**

**ANEXO N° 2**  
**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

**FICHA DE RECOLECCION DE DATOS**

CODIGO  FECHA

**1. DATOS DEL PACIENTE**

SEXO M  F

DNI

SALA

EDAD

**2. RESULTADOS DE LABORATORIO**

PLAQUETAS POR IMPEDANCIA (PLT)  x 10<sup>3</sup> / uL

PLAQUETAS POR FLUORESCENCIA (PLT-F)  x 10<sup>3</sup> / uL

ALARMAS PLAQUETAS (PLT MENSAJE IP) PLT ABN DISTRIBUTION

PLT CLUMPS ?

FRACCION DE PLAQUETAS INMADURAS (IPF)  %

VOLUMEN PLAQUETARIO MEDIO (VPM)  fL

PLAQUETOGRAMA

## ANEXO N° 3

### AUTORIZACION DEL HOSPITAL NACIONAL DOS DE MAYO



PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital Nacional  
Dos de Mayo

"AÑO DEL DIALOGO Y LA RECONCILIACIÓN NACIONAL"

CARTA N° 074 -2018-OACDI-HNDM

Lima, 05 de octubre 2018

Estudiante:

**CARLOS ALBERTO ALVAREZ DIESTRA**

Investigadora Principal

Presente. -

ASUNTO : AUTORIZACIÓN Y APROBACIÓN PARA REALIZAR ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

REF : REGISTRO N° 017486

De mi mayor consideración,

Es grato dirigirme a usted para saludarlo cordialmente y al mismo tiempo comunicarle que con Memo N° 0839-2018-DPCyAP-HNDM en el Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica, informa que no existe ningún inconveniente en que se desarrolle el trabajo de investigación titulado:

**"COMPARACIÓN ENTRE LOS MÉTODOS DE IMPEDANCIA Y FLUORESCENCIA PARA EL RECUENTO DE PLAQUETAS EN PACIENTES CON TROMBOCITOPENIA DEL HOSPITAL NACIONAL DOS DE MAYO, LIMA 2018"**

En tal sentido esta oficina autoriza la realización del estudio de investigación. Consecuentemente el investigador deberá cumplir con el compromiso firmado, mantener comunicación continua sobre el desarrollo del trabajo y remitir una copia del proyecto al concluirse.

La presente aprobación tiene vigencia a partir de la fecha y **expira el 04 de octubre del 2019.**

Si aplica, los trámites para su renovación deberán iniciarse por lo menos 30 días previos a su vencimiento.

Sin otro particular, me despido de usted.

Atentamente

MINISTERIO DE SALUD  
HOSPITAL NACIONAL "DOS DE MAYO"  
Dr. **JOHNNY RICARDO URZAN DELGADO**  
C.M.P. 21974 - N.E. 19950  
Jefe de la Oficina de Apoyo a la Capacitación,  
Docencia e Investigación

CARTA N° 0124-EI

JRMD / LNBC / eva

## ANEXO N° 4. MATRIZ DE CONSISTENCIA

### “COMPARACIÓN ENTRE LOS MÉTODOS DE IMPEDANCIA Y FLUORESCENCIA PARA EL RECUENTO DE PLAQUETAS EN PACIENTES CON TROMBOCITOPENIA DEL HOSPITAL NACIONAL DOS DE MAYO, LIMA 2018”

| PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN  | OBJETIVO DE INVESTIGACIÓN  | VARIABLES  | DIMENSIONES   | INSTRUMENTO   | METODOLOGÍA   |
|--|--|--|---|---|---|
| <p><b>Problema general:</b></p> <p>¿Cuál es la diferencia entre el recuento de plaquetas mediante los métodos de impedancia y fluorescencia, en pacientes con trombocitopenia del Hospital Nacional Dos de Mayo, Lima 2018?</p>  | <p><b>Objetivo general:</b></p> <p>Comparar el recuento de plaquetas mediante los métodos de impedancia y fluorescencia, en pacientes con trombocitopenia del Hospital Nacional Dos de Mayo, Lima 2018.</p>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Método para recuento de plaquetas.</li> </ul>                                   | <p>..... X 10<sup>3</sup> /<math>\mu</math>L</p>  | <p>Ficha de recolección de datos.</p>   | <p><b>DISEÑO:</b><br/>Estudio comparativo, descriptivo, retrospectivo de corte transversal.</p> <p><b>POBLACIÓN:</b><br/>Muestras procesadas para hemograma completo en el Hospital Nacional Dos de Mayo, durante el periodo 15 de enero a 31 de mayo del 2018.</p> <p><b>MUESTRA:</b><br/>Se determinó el tamaño de muestra mediante fórmula (ver anexo N° 1) resultando un total de 125 muestras.</p> |
| <p><b>Problemas específicos:</b></p> <p>¿Cuál es la diferencia entre el recuento de plaquetas mediante los métodos de impedancia y fluorescencia, en pacientes con trombocitopenia del Hospital Nacional Dos de Mayo, Lima 2018, según rangos de plaquetas?</p>                      | <p><b>Objetivos específicos:</b></p> <p>Determinar la diferencia entre el recuento de plaquetas mediante los métodos de impedancia y fluorescencia, en pacientes con trombocitopenia del Hospital Nacional Dos de Mayo, Lima 2018, según rangos de plaquetas.</p>                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>Rangos de Plaquetas en trombocitopenias.</li> </ul>                             | <ul style="list-style-type: none"> <li>50 - 100 x 10<sup>3</sup> / <math>\mu</math>L</li> <li>20 - 50 x 10<sup>3</sup> / <math>\mu</math>L</li> <li>&lt; 20 x 10<sup>3</sup> / <math>\mu</math>L</li> </ul> | <p>Ficha de recolección de datos.</p>   |   |
| <p>¿Cuál es la diferencia entre el recuento de plaquetas mediante los métodos de impedancia y fluorescencia, en pacientes con trombocitopenia del Hospital Nacional Dos de Mayo, Lima 2018, según la presencia o no de alarmas?</p>  | <p>Determinar la diferencia entre el recuento de plaquetas mediante los métodos de impedancia y fluorescencia, en pacientes con trombocitopenia del Hospital Nacional Dos de Mayo, Lima 2018, según la presencia o no de alarmas.</p>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Presencia de alarmas plaquetarias</li> </ul>                                    | <ul style="list-style-type: none"> <li>PLT Abn Distribution</li> <li>PLT Clumps?</li> </ul>   | <p>Ficha de recolección de datos.</p>   |   |
| <p>¿Cuál es la diferencia entre el recuento de plaquetas mediante los métodos de impedancia y fluorescencia, en pacientes con trombocitopenia del Hospital Nacional Dos de Mayo, Lima 2018, según el volumen plaquetario medio (VPM) y la fracción de plaquetas inmaduras (IPF)?</p> | <p>Determinar la diferencia entre el recuento de plaquetas mediante los métodos de impedancia y fluorescencia, en pacientes con trombocitopenia del Hospital Nacional Dos de Mayo, Lima 2018, según el volumen plaquetario medio (VPM) y la fracción de plaquetas inmaduras (IPF).</p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>Volumen plaquetario medio.</li> <li>Fracción de plaquetas inmaduras.</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>..... fL</li> <li>..... %</li> </ul>   | <p>Ficha de recolección de datos.</p>   |   |
| <p>¿Cómo es la distribución de pacientes con trombocitopenia del Hospital Nacional Dos de Mayo, Lima 2018, según la edad, sexo y procedencia del paciente?</p>   | <p>Determinar la distribución de pacientes con trombocitopenia del Hospital Nacional Dos de Mayo, Lima 2018, según la edad, sexo y procedencia del paciente.</p>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Edad</li> <li>Sexo</li> <li>Procedencia</li> </ul>                              | <p>Números naturales</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Masculino</li> <li>Femenino</li> <li>Hospitalizado</li> <li>Emergencia</li> <li>UCI</li> </ul>  | <p>Ficha de recolección de datos.</p> <p>Ficha de recolección de datos.</p> <p>Ficha de recolección de datos.</p> |   |

