

# TALLER: GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LA FASE PREANALÍTICA



**VI CONGRESO LATINOAMERICANO  
DE BIOQUIMICA CLÍNICA**

**II CONGRESO INTERNACIONAL DEL  
COLEGIO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA**

*¡El riesgo es que te quieras quedar!*

Cartagena, Colombia 3 al 6 OCTUBRE 2024

## **Variables Preanalíticas en Hematología y Coagulación**

**BQ. Eduardo Aranda**

**Grupo de trabajo PRELATAM de COLABIOCLI**



# AGENDA

- Puntos críticos de la fase preanalítica
- Variables preanalíticas relativas al paciente
- Preparación del paciente
- Toma de muestra
- Estabilidad de la muestra
- Centrifugación/separación
- Mensajes para la casa



# Misión del laboratorio



Realizar los exámenes cuyos resultados sean seguros y confiables para el paciente, y que sean útiles en la prevención, diagnóstico, o control de terapia de una enfermedad.



Los errores del laboratorio se traspasan a los pacientes, provocándoles mal diagnóstico, cambios de tratamientos o llevarlos a la sala de urgencias.



La disminución del riesgo se consigue manteniendo el control de todos y cada uno de los procesos asociados al manejo de una muestra y una medición específica.



- **Estrés por falta de resultado en el tiempo oportuno**
- **Repetición de exámenes por muestra extraviada**
- **Sub detección de patologías por muestra en mal estado**
- **Diagnósticos y tratamiento tardío**

# Impacto en el paciente de los errores del laboratorio



# Las Fases del Análisis

## ÁMBITO DEL LABORATORIO CLÍNICO



### Pre-Preanalítica

Clínico-Paciente



### Preanalítica

Extracción, transporte, procesamiento y almacenamiento.



### Analítica

Instrumentos, reactivos y procesos analíticos.



### Postanalítica

Calibradores, controles, intervalo referencia, estadística.



### Post-postanalítica

Interpretación y comparación clínica.



# Puntos críticos de la fase preanalítica

---

Orden médica

---

Indicaciones al paciente y/o médico

---

Toma de muestra

---

Transporte de muestra

---

Procesamiento en el laboratorio.



# Fase pre-preanalítica

## ¿Qué le corresponde al Médico?

- Revisa el contexto clínico del paciente
- Realiza un examen físico
- Antecedentes personales y familiares
- Selección del tipo de análisis de laboratorio
- Emisión de solicitud/ Orden médica



# Confusión al solicitar exámenes

PCR (reactiva) por PC (coagulación)  
FVIII por Inhibidor de FVIII  
FX por anti FXa  
FV por FV Leiden

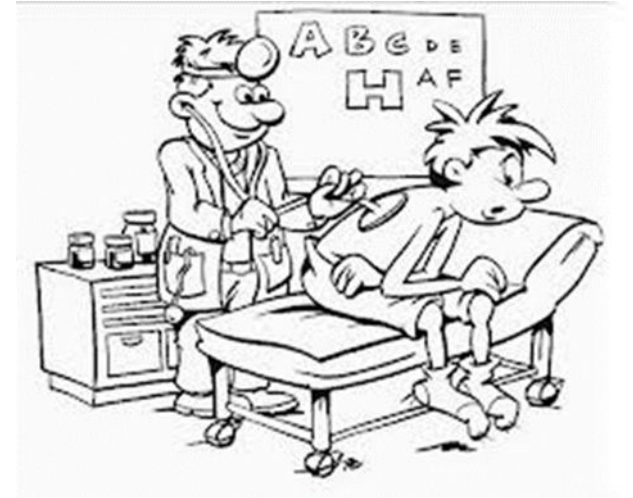
<https://doi.org/10.1515/dx-2017-0002>

- **Solicitud de examen incorrecta o en un momento inadecuado**
- **Diagnóstico incorrecto.**





# Fase preanalítica



## ¿Qué le corresponde al Paciente?

- Aceptación de las instrucciones sobre el análisis
- Preparación del paciente
- Aceptación o consentimiento, si es necesario



# Fase preanalítica



## ¿Qué le corresponde al Profesional de Salud en la Toma de muestra?

- Instrucciones para la preparación del paciente
- Procedimiento de identificación del paciente y de las muestras
- Procedimiento de toma de muestra
- Procedimiento de transporte de muestra



# Fase preanalítica

¿Qué le corresponde al Profesional de Laboratorio?

- Aplicación de criterios de aceptación y rechazo
- TOMA DE MUESTRA
- Procedimiento de separación, fraccionamiento o de almacenamiento y preservación de muestra



# Variables preanalíticas: Relativas al paciente

- Edad /Etnia/Género
- Dieta/Tratamiento/Drogas
- Grupo sanguíneo
- Influencia hormonal
  - Embarazo
  - Ciclo menstrual
  - Anticonceptivos y terapia hormonal de reemplazo
- Estrés físico/ejercicio
- Estado de hidratación/Variación circadiana
- Postura durante la extracción
  - Acostado (hospitalizado) o Sentado



# Preparación del paciente

## Preparación del paciente.



- 1.- 24 horas antes, no haga ejercicio físico intenso.
- 2.- 8 -12 horas antes, no coma ni beba (ayuno).
- 3.- Un hora antes, no fume.
- 4.- 10-15 minutos antes, sientese y relajese.
- 5.- Informe de su tratamiento, medicamentos y suplementos.
- 6.- Hora de extracción. preferentemente de 7 a 10 horas.



# Hemostasia

## Preparación del paciente

### Estrés físico/ Ejercicio

- ↑ FVW:Ag (aumenta hasta 2,5 veces)
- ↑ FVW: CoR
- ↑ FVIII
- ↑ Actividad fibrinolítica
- ↑ t-PA
- ↑ Dímero D (persiste hasta 1 h)

### Estrés mental agudo

- ↑ FVW:Ag
- ↑ FVW:CoR
- ↑ FVIII
- ↑ Fibrinógeno
- ↑ t-PA

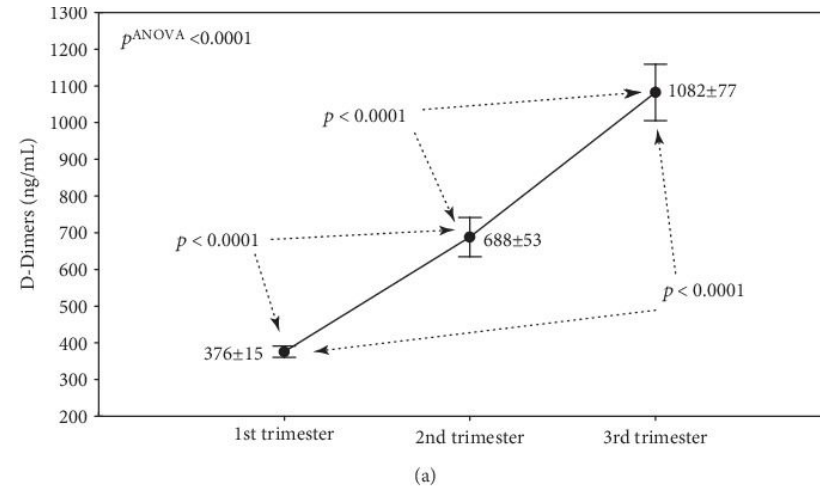


# Preparación del paciente

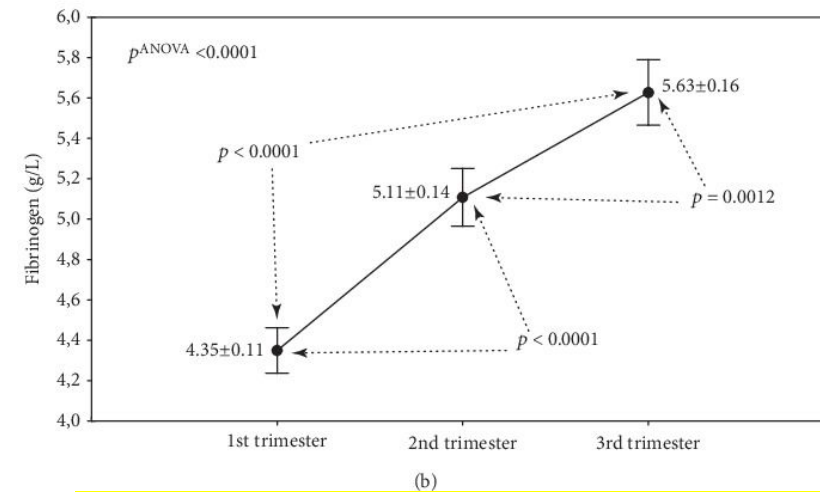
## Cambios en el Embarazo

↑↑↑↑	FVW	FII
↑	Fibrinógeno	FV
↑↑	FVII, ↑↑ FVIII; ↑ FIX,	FXIII
↑↑	FX, FXII	
↓	PC PS	

- Principalmente tercer trimestre
- Normalización de los parámetros 3 semanas postparto



Dímero D



Fibrinógeno

The effect of physiological pregnancy on the concentrations of D-Dimers (a) and fibrinogen (b). Abbreviations: p ANOVA: p values from one-factor ANOVA; 1st trimester (n = 71), 2nd trimester (n = 67), and 3rd trimester (n = 62). Biomed Res Int. 2020 May 24;2020:3192350

# Hematología general: Hemograma

## • Estrés y ansiedad

- Elevación recuento leucocitos
- Inversión de la proporción neutrófilo-linfocitos

## • Ejercicio intenso

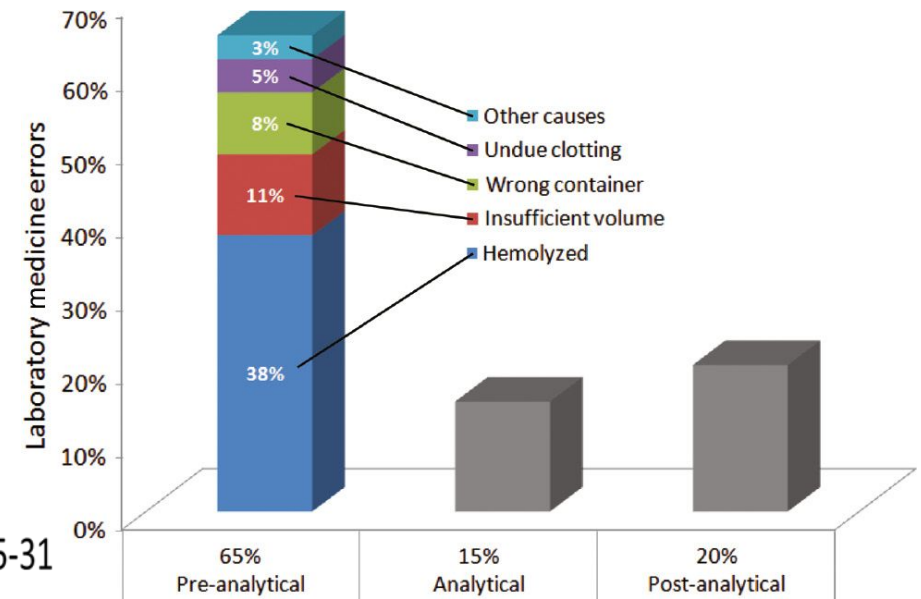
- Elevación recuento leucocitos
- Elevación del recuento plaquetario
- Disminución del recuento de glóbulos rojo
- Aumento de la hemólisis





# Variables preanalíticas Relativas a la toma de muestra

- La mayoría de las muestras están hemolizadas o coaguladas (43%)
- Volumen inadecuado
- Mal rotuladas
- Sin marcar
- Tubo inadecuado



G Lippi et al. Diagnosis 2019;6(1): 25-31

- El control de las variables preanalíticas tiene como objetivo asegurar la calidad de la muestra a evaluar.
- Las etapas más vulnerables son la identificación del paciente y la muestra, así como el proceso de extracción.

# Guías y recomendaciones

## Recomendaciones conjuntas EFLM-COLABIOCLI para la extracción de muestras de sangre venosa

“Esta es una traducción al español del documento realizado conjuntamente por la EFLM-COLABIOCLI sobre las recomendaciones para la extracción de muestras de sangre venosa, ha sido realizada en conjunto por la Sociedad Española de Medicina de Laboratorio (SEQC<sup>ML</sup>) y el Grupo de Trabajo Latinoamericano de la Fase Pre-Analítica (WG-PRE-LATAM) de la Confederación Latinoamericana de Bioquímica Clínica (COLABIOCLI). Las palabras entre paréntesis se usan en América Latina. La EFLM no ha colaborado en esta traducción, y, por tanto, no tiene responsabilidad sobre la misma. La versión oficial de este documento puede encontrarse en [www.EFLM.eu](http://www.EFLM.eu) Los usuarios deben citar la versión oficial al citar el documento.”



FINAL DRAFT

INTERNATIONAL STANDARD

ISO/FDIS 20658

ISO/TC 212  
 Secretariat: ANSI  
 Voting begins on: 2023-01-30  
 Voting terminates on: 2023-03-27

Requirements for the collection and transport of samples for medical laboratory examinations

Artículo de la EFLM



MEMBERS OF THIS DRAFT ARE INVITED TO SUBMIT WITH THEIR COMMENTS NOTIFICATION OF ANY RELAYED PATENT RIGHTS OF WHICH THEY ARE AWARE AND TO PROVIDE SUPPORTING DOCUMENTATION.

IN ADDITION TO THEIR EVALUATION AS BEING ACCEPTABLE FOR INDUSTRIAL, TECHNICAL, COMMERCIAL AND EDUCATIONAL USE, ISO INTERNATIONAL STANDARDS MAY OR MAY NOT BE CONSIDERED IN THE LIGHT OF THEIR POTENTIAL TO BECOME STANDARDS TO WHICH REFERENCE MAY BE MADE IN



Reference number ISO/FDIS 20658:2023(E)



# Información e indicaciones para pacientes y clínicos

## ❑ Consumo de medicamentos

Tratamiento anticoagulante

Tratamiento con drogas antiplaquetarias

Horario de ingestión de medicamento

## ❑ Condición de ayuno

- 8 o 12 horas

## ❑ Horario en que debe ser extraída la muestra

## ❑ Tipo de muestra, volumen requerido, estabilidad de la muestra

## ❑ Tiempos de respuesta

## ❑ Información clínica



# Sistema de Información de exámenes: SINFEX

## HEMOGRAMA y VHS

Actualizado en Enero 2022 por TM Ma Patricia Vega.  
 Revisado y Aprobado por TM César González.

Código del Examen : 420

Nombres del Examen : Hemograma con Velocidad de Sedimentación Eritrocitaria (VHS)

Laboratorio	Días de Procesamiento	Plazo de Entrega de Resultados
Laboratorio CMSJ Bioquímica (Hematología)	Lunes a Sábado (08:00 - 18:00 hrs.)	1 día hábil
Laboratorio Hospital Clínico	Lunes a Domingo 24 horas	2 horas
Laboratorio Clínica San Carlos de Apoquindo	Lunes a Domingo 24 horas	Rutina: En el día Urgente (STAT): 2 horas.
Laboratorio Hematología de Especialidad	Lunes a Viernes Se reciben muestras hasta las 14:00 horas.	En el día

Preparación del Paciente : No requiere preparación

Muestra Requerida : Los Laboratorios de Bioquímica, Urgencia Hospital y Urgencia San Carlos realizan la VHS del tubo tapa Lila (EDTA) del Hemograma, por lo que **NO** requieren el envío de tubo tapa negra.

El Laboratorio de Hematología de Especialidad realiza la VHS a partir del tubo tapa Negra, por lo que debe enviar los dos tubos: lila y negro.

### ■ Sangre Total (Hemograma y VHS)

Recolectar 4 mL de sangre en un tubo tapa lila (EDTA).

El frotis sanguíneo debe realizarse antes de 6 horas de tomada la muestra.

### ■ Sangre Total (VHS solo para Laboratorio de Hematología de Especialidad)

Recolectar 1,2 mL de sangre en un tubo tapa negra (Citrato de Sodio).

Muestra Opcional: No Aplica

Muestra	T° Ambiente (20 - 25 °C)	Refrigerada (2 - 8 °C)	Congelada (-20°C)
Sangre Total (Hemograma)	24 horas	24 horas	No Aplica
Sangre Total (VHS)	24 horas	24 horas	No Aplica

Condiciones de Envío al Laboratorio : \*Dentro de Santiago y en el día  
 Sangre total (Hemograma y VHS): Ambiente SI/Refrigerada SI/Congelada NO

\*Desde fuera de Santiago

Sangre total (Hemograma y VHS): Ambiente NO/Refrigerada SI/Congelada NO

\*Sólo si el tiempo de traslado cumple con la estabilidad de la muestra.

Sistema de Información de Exámenes, SINFEX

Método Utilizado :

Automatizado (contador hematológico) y Microscopía.

Intervalos de Referencia <sup>4,5,6</sup> :

Edad	Eritrocitos (x10 <sup>12</sup> /mm <sup>3</sup> )	VCM (fL)	HCM (pg)	CHCM (g/L)	Hemoglobina (gr/dL)	Hematocrito (%)
1 - 3 días	4.0 - 6.6	95 - 121	31 - 37	29 - 37	14.5 - 22.5	45 - 6
1 semana	3.9 - 6.3	88 - 126	28 - 40	28 - 38	13.5 - 21.5	42 - 6
2 semanas	3.6 - 6.2	86 - 124	28 - 40	28 - 38	12.5 - 20.5	39 - 6
1 mes	3.0 - 5.4	85 - 123	28 - 40	29 - 37	10.0 - 18.0	31 - 5
2 meses	2.7 - 4.9	77 - 115	26 - 34	29 - 37	9.0 - 14.0	28 - 4
3 - 6 meses	3.1 - 4.5	74 - 108	25 - 35	30 - 36	9.5 - 13.5	29 - 4
0.5 - 2 años	3.7 - 5.3	70 - 86	23 - 31	30 - 36	10.5 - 13.5	33 - 3
2 - 6 años	3.9 - 5.3	75 - 87	24 - 30	31 - 37	11.5 - 13.5	34 - 4
6 - 12 años	4.0 - 5.2	77 - 95	25 - 33	31 - 37	11.5 - 15.5	35 - 4
12 - 18 años						
Mujeres	4.1 - 5.1	78 - 102	25 - 35	31 - 37	12.0 - 16.0	36 - 4
Hombres	4.5 - 5.3	78 - 98	25 - 35	31 - 37	13.0 - 16.0	37 - 4
Adultos						
Mujeres	4.0 - 5.2	80 - 100	26 - 34	31 - 37	12.0 - 16.0	36 - 4
Hombres	4.5 - 5.9	80 - 100	26 - 34	31 - 37	13.5 - 17.5	41 - 5

Edad	Leucocitos Totales (x 10 <sup>9</sup> /mm <sup>3</sup> )	Neutrófilos (x 10 <sup>9</sup> /mm <sup>3</sup> )	Linfocitos (x 10 <sup>9</sup> /mm <sup>3</sup> )	Eosinof (x 10 <sup>9</sup> /mm <sup>3</sup> )
1 día	9.0 - 34.0	6.0 - 21.0	2.0 - 11.5	
1 semana	5.0 - 21.0	1.5 - 10.0	2.0 - 17.0	
2 semanas	5.0 - 20.0	1.0 - 9.5	2.0 - 17.0	
1 mes	5.0 - 19.5	1.0 - 9.0	2.5 - 16.5	
6 meses	6.0 - 17.5	1.0 - 8.5	4.0 - 13.5	
1 año	6.0 - 17.5	1.5 - 8.5	4.0 - 10.5	
2 años	6.0 - 17.0	1.5 - 8.5	3.0 - 9.5	
4 años	5.5 - 15.5	1.5 - 8.5	2.0 - 8.0	
6 años	5.0 - 14.5	1.5 - 8.0	1.5 - 7.0	
8 años	4.5 - 13.5	1.5 - 8.0	1.5 - 6.8	
10 años	4.5 - 13.5	1.8 - 8.0	1.5 - 6.5	
16 años	4.5 - 13.0	1.8 - 8.0	1.2 - 5.2	
Adultos	4.5 - 11.0	1.8 - 7.7	1.0 - 4.8	

Edad	Basófilos (%)	Eosinófilos (%)	Baciliformes (%)
2 años	0 - 1	1 - 5	0 - 8
15 años	0 - 1	1 - 5	0 - 6
Adultos	0 - 1	2 - 4	0 - 5

Edad	Segmentados (%)	Linfocitos (%)	Monocitos (%)
2 años	17 - 60	20 - 70	
15 años	25 - 60	25 - 50	4 - 12
Adultos	50 - 70	25 - 40	

Edad	Plaquetas (/mm <sup>3</sup> )
Todas	140000 - 400000

Edad	Velocidad de Sedimentación
<50 años	
Mujeres	1 - 24
Hombres	1 - 14
>50 años	
Mujeres	1 - 29
Hombres	1 - 19

Valor Crítico <sup>3</sup> :

Parámetro	Valor de Alerta
Hematocrito (%)	<20 y >60 (Adulto y niño) <30 y >70 (Recién Nacidos)
Hemoglobina (gr/dL)	<7 y >23
Plaquetas / mm <sup>3</sup>	<20.000 y > 1.000.000
Leucocitos / mm <sup>3</sup>	<2.000 y > 50.000
Microscopía	Presencia de blastos, Visualización de Plasmodium sp

Parámetros de Desempeño<sup>7</sup> :

Parámetro	CV%	Concentración	Parámetro	CV%	Concentración
Eritrocitos	2.03	2.24 x 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	Hemoglobina	1.80	5.8 gr/dL
	1.20	4.28 x 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>		1.10	12.3 gr/dL
	1.19	5.15 x 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>		1.33	16.1 gr/dL

Parámetro	CV%	Concentración	Parámetro	CV%	Concentración
Leucocitos	4.27	2.93 x 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	Hematocrito	1.60	17.5 %
	3.19	6.93 x 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>		1.43	35.8 %
	2.85	16.0 x 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>		1.87	46.0 %

Parámetro	CV%	Concentración	Parámetro	CV%	Concentración
Plaquetas	8.59	62 x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	VHS	4.06	35 mm/Hr
	7.74	226 x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>		11.6	5 mm/Hr
	6.24	518 x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>			

Información Clínica <sup>1</sup> :

El Hemograma es un conjunto de datos hematológicos utilizados como screening básico para múltiples propósitos. Sus resultados permiten conocer la cantidad y morfología de las diferentes fracciones celulares que componen la sangre, diferentes índices calculados a partir de los eritrocitos, etc. Los resultados proporcionan valiosa información diagnóstica sobre la salud actual del paciente y la respuesta del paciente frente a una enfermedad o tratamiento.

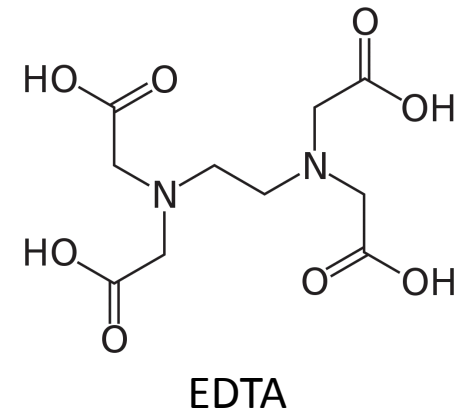
Indicaciones:

- Detección de desórdenes hematológicos tales como leucemias, neoplasmas, o anomalías inmunológicas.
- Determinar la presencia de anomalías hematológicas hereditarias.
- Detectar o evaluar estados de anemia e infecciones y su respuesta al tratamiento.
- Monitorear la pérdida de sangre y su respuesta a la transfusión.
- Monitorear el estado hematológico durante el embarazo.
- Monitorear respuesta a la quimioterapia y evaluar reacciones no deseadas a drogas que puedan causar discrasias.

Referencias :

1. Schnell Z., Leuven A., Kranzitz T. (2006). Davis's Comprehensive Laboratory and Diagnostic Test Handbook-with Nursing Implications. F.A. Davis Company.
2. Mayo Medical Laboratories. CBC with Differential. Blood
3. Servicio de Laboratorios Clínicos Pontificia Universidad Católica de Chile. Procedimiento Valores de Alerta. Documento Interno.
4. Lubin BH. Reference values in infancy and childhood. 1994. En Hematology of infancy and childhood. De Nathan DG, Oski FA. 4th edition. W. B. Saunders Company. Philadelphia.
5. W.Hell, V. Ehrhardt. (2008) Reference Ranges for Adults and Children Pre-analytical Considerations.
6. J. Van den Bossche, K. Devreese, R. Malfait. 2002. Reference Intervals for a Complete Blood Count on different Automated Haematology Analyzers: Abx Pentra 120 Retic, Coulter Gen's, Sysmex SE 9500, Abbot Cell Dyn 4000 and Bayer Advia 120. Clin Chem Lab Med 40(1):69-73.
7. Software para el manejo del Control de Calidad Interno, Unity Real Time versión 1.0. Bio-rad Laboratories.
8. NCCLS. Reference and Selected Procedure for the Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR) Test; Approved Standard—Fourth Edition, H02-A4.

# Toma de Muestra: El Anticoagulante



## PRUEBAS HEMATOLÓGICAS

- El tubo de **EDTA** es indispensable para realizar un hemograma completo.
- El EDTA conserva la forma, tamaño de las células sanguíneas
- Para la preparación del frotis de sangre el EDTA ayuda a mantener la integridad de las células sanguíneas.
- Los tubos de EDTA se utiliza en las pruebas de biología molecular, para la extracción de ADN y ARN, preservando los ácidos nucleicos, garantizando la fiabilidad de las pruebas genéticas.

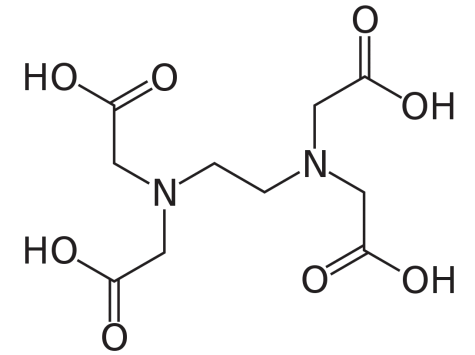
Clot activators and anticoagulant additives for blood collection. A critical review on behalf of COLABIOCLI WG-PRE-LATAM

CRITICAL REVIEWS IN CLINICAL LABORATORY SCIENCES

<https://doi.org/10.1080/10408363.2020.1849008>



# Toma de Muestra: El Anticoagulante



- ¿Es preferible el  $K_2EDTA$  al  $K_3EDTA$  ?
- La concentración final:  $1,50 \pm 0,25$  mg/ml de sangre
- Es adecuado:
  - ✓ Medición de hemoglobina
  - ✓ Hemograma (con excepción para la pseudotrombocitopenia)
  - ✓ Frotis de sangre
  - ✓ Hematocrito
  - ✓ Velocidad de sedimentación eritrocitaria



Medicina & Laboratorio 2020;24:131-140. <https://doi.org/10.36384/01232576.211>

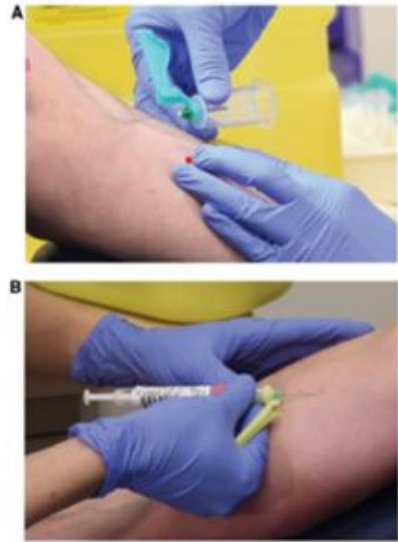
**No es recomendable para las pruebas de coagulación**





# Toma de Muestra

- La punción venosa debe ser rápida y limpia, para evitar la entrada de aire y la formación de espuma.
- La punción con el sistema de vacío es la recomendada, se realiza con una técnica que asegure la misma trayectoria de la aguja con la vena, en un ángulo entre 5-30°
- La velocidad de extracción debe ser semejante a la del flujo sanguíneo
- Los tubos deben ser correctamente enrasados
- Mezclar por inversión (3 a 5 veces) y no agitar.
- Se debe respetar la calidad y cantidad de anticoagulante.





# Tipo de Tubo

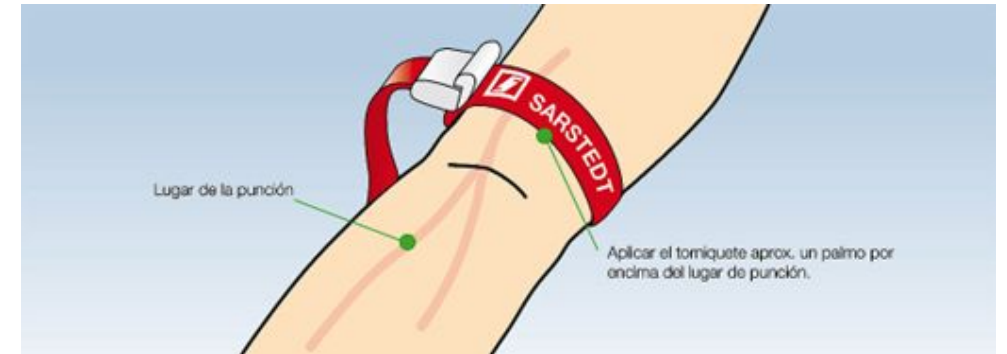


- Se recomienda que los laboratorios de coagulación adquieran tubos comerciales de citrato de sodio al 3,2 %, ya que éstos permiten controlar los errores que ocurren en la preparación de los tubos con anticoagulantes, además indican el nivel de volumen de llenado y fecha de expiración en su etiqueta.
- El material del tubo de colección puede ser plástico (polipropileno) o tubos de vidrio recubiertos en silicona.
- Las diferentes marcas poseen presentaciones con diferentes volúmenes (recién nacidos, pediátricos, adultos).



# Uso de torniquete y puntos de punción

- Presión de referencia 40 mm Hg aprox.
- Alternativa transiluminador
- Tiempo: no más de un minuto
- Evite el bombeo del puño



## Puntos de punción

- ➊ Vena basílica
- ➋ Vena mediana cubital (se trata de la vena más profunda y gruesa, no de color azul, que solo se aprecia como un abombamiento)
- ➌ Vena cefálica, trayectoria del lado del pulgar
- ➍ Vena cefálica
- ➎ Vena basílica
- ➏ Red venosa dorsal de la mano



# Tamaño de la aguja



- Un tamaño pequeño provoca ruptura de células y hemólisis
- El tamaño está en relación con el tipo de paciente o volumen de sangre
  - 21-gauge para adultos.
  - 22 o 23-gauge para recién nacidos o niños.
- El uso de jeringa/aguja incrementa el riesgo de hemólisis
- Se debe evitar la extracción desde vías venosas o catéteres

Recomendaciones conjuntas EFLM-COLABIOCLI para la extracción de muestras de sangre venosa .  
Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)



# Variables post extracción de la muestra

- Las muestras deben ser transportadas a temperatura ambiente 18 -25°C
- La estabilidad de las muestras almacenadas depende del tipo de ensayo a realizar. El tiempo hasta realizar el ensayo debe ser de 4 horas post extracción, el TP es el ensayo más resistente.
- Para medir anti Xa, la muestra debe ser rápidamente separada.
- Centrifugue a temperatura ambiente a 1.500 g por 10-15 minutos, asegurando en el PPP un recuento de plaq < 10.000 plaq/uL



# Problemas en la extracción de la muestra

- Muestra hemolizada/coagulada
- Es un proceso generalizado con daño a los glóbulos rojos y presencia de Hb en plasma o suero.
- Hemolisis debido a condiciones propias del paciente (3%) o de causa no biológica, que ocurre en la extracción o manipulación de la muestra.
- Hay activación de factores de coagulación y generación de trombina.
- Gran mayoría de las veces se solicita nueva muestra.



# Muestras Coaguladas



- El proceso de coagulación puede ser activado durante la punción y procesamiento de la muestra.
- Las muestras activadas pueden contener coágulos de fibrina.
- La formación de coágulos conduce al consumo de factores II, V, VIII y fibrinógeno en el plasma.
- Al activarse los factores de la coagulación provocan en un acortamiento de algunos tiempos de coagulación.
- TP y TTPa en las muestras coaguladas son generalmente no fidedigno o poco fiable.

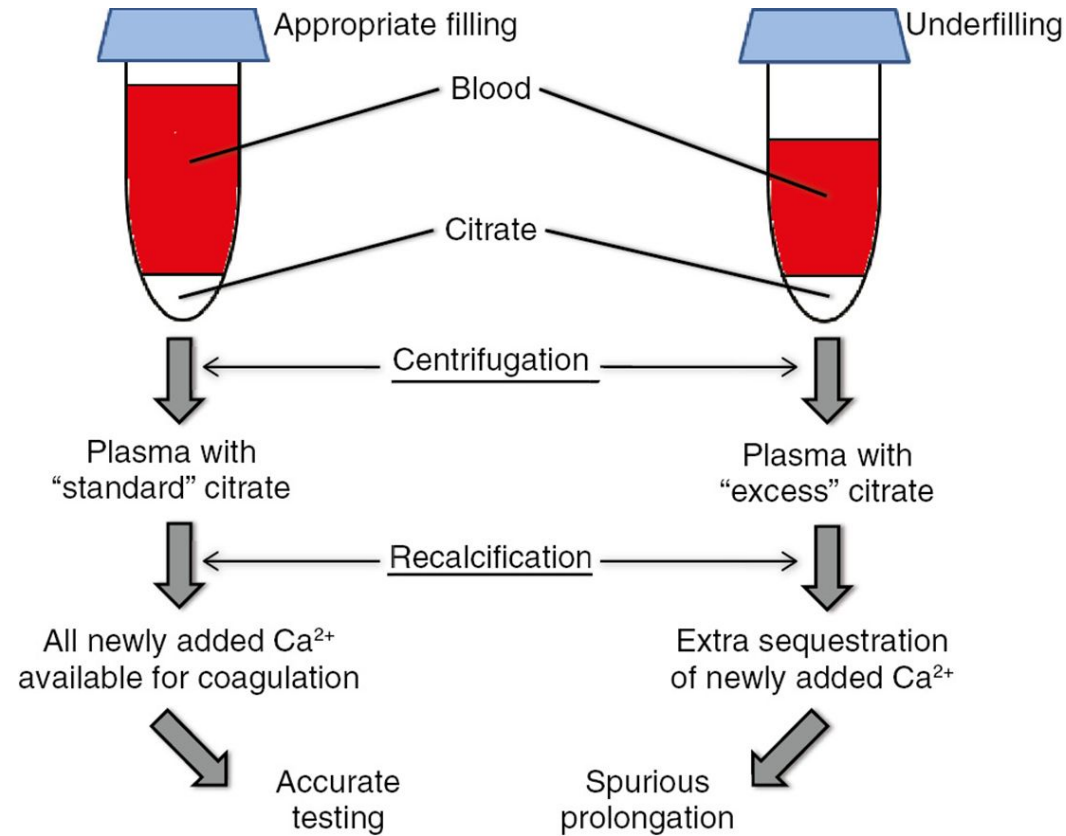


# Volumen de muestra insuficiente o inapropiada

- A pesar de la pérdida de sangre debido a repetición de las pruebas de laboratorio, esto no es problema en un sujeto sano.
- Extracciones repetitivas en pacientes anémicos o recién nacidos.
  - Un niño recién nacido sano tiene un volumen de sangre de 300 ml
  - Un prematuro de 1.000 g tiene un volumen de sangre de 80 ml
- Pacientes con venas pequeñas o de difícil acceso



# Tubo de sangre citratada con un llenado insuficiente





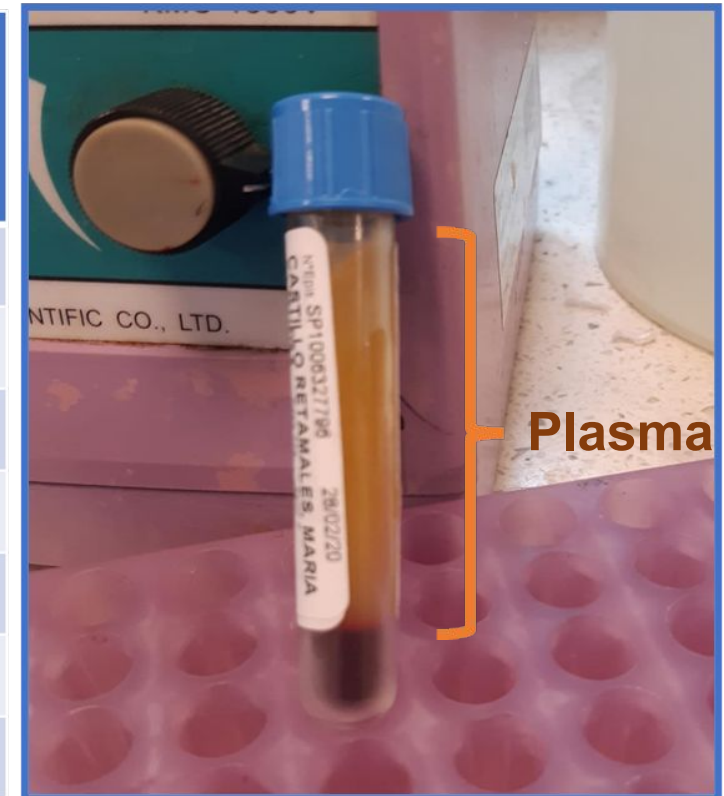
# Variables durante la extracción de la muestra

Corrección por Hematocrito para tubos de 5 mL

Mantener la relación anticoagulante/ sangre  
 Ajustar en casos de hematocrito <35% o >55%

Si tenemos un **Hto** alto, hay menor volumen de plasma.  
 Implica mayor tiempo en TP y TTPa.

HTO %	Vol de Citrato (mL)	HTO %	Vol de Citrato (mL)
20	0,70	55	0,43
25	0,65	60	0,39
30	0,62	65	0,35
35	0,57	70	0,32
40	0,54	75	0,28
45	0,50	80	0,25
50	0,46	-	-



CLSI H21-A5 Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline—Fifth Edition



# Trasporte de Muestras



- Las muestras externas se transportan por diversos medios.
  - Cajas, Moto boy, Coche, Trenes, Aviones
- Las muestras deben estar protegidas contra desvíos de la temperatura y la agitación.
- Es crucial monitorear estas condiciones.
- Cada laboratorio deberá contar con reglas estandarizadas para el transporte, ya sean hechas por la organización, reglas locales, nacionales o internacionales (ISO 15189:2022, ISO 20658:2023, CLSI, CLIA)



# Trasporte de Muestra

- Transporte: temperatura ambiente, refrigerada, congelada (plasma), dependiendo de los parámetros a medir y según su estabilidad.
- Para las pruebas de coagulación, las muestras deben ser mantenidas a temperatura ambiente (18 a 25 °C)



International Council for Standardization in Haematology (ICSH) recommendations for processing of blood samples for coagulation testing

Kitchen et al, Int J Lab Hematol 2021 Dec;43(6):1272-1283.



# Estabilidad de la muestra de sangre para las pruebas más comunes en Coagulación

**Table 1** Stability of Whole Blood Sample for Common Hemostasis Assays

Assay	Stability of Whole Blood Sample	
	CLSI H21 A5 <sup>10</sup>	Other <sup>30-35</sup>
APTT	4 h	18-24 h
PT	24 h	24-72 h
APTT or anti-Xa assay for sample containing UFH	1 h	
APTT or Anti-Xa assay for sample containing LMWH	4 h	24 h
Factors II, VII, IX, X, and XI activities	4 h	48 h
Factors V and VIII	4 h	24 h
VWF:Ag and VWF:RCo	4 h	24-48 h
Fibrinogen	4 h	48 h to 7 d
D-dimer	4 h	48 h
Antithrombin activity	4 h	48 h to 7 d
PC activity	4 h	48 h
PS activity	4 h	4-6 h
Free PS	4 h	24 h

CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute; APTT, activated partial thromboplastin time; h, hours; PT, prothrombin time; UFH, unfractionated heparin; LMWH, low-molecular weight heparin; VWF:Ag, von Willebrand factor antigen; VWF:RCo, von Willebrand factor: Ristocetin cofactor; d, days; PC, protein C; PS, protein S.

Seminars in Thrombosis & Hemostasis Vol. 38 No. 6/2012



## Estabilidad de la muestra: Efecto del pH

- La capacidad tampón de los tubos de citrato comerciales permite mantener el pH de la sangre entre 7,3-7,45
- Un aumento en el pH ocurre cuando los tubos están destapados por más de 30 min. Debido al escape de  $\text{CO}_2$  por difusión.
- Esto se agudiza más cuando la muestra esta procesada, debido a la perdida de la capacidad tampón de la Hb.
- Lo cual provoca, cambios clínicamente significativos, en el TP y TTPa, como también en los estudios de función plaquetaria.



## Estabilidad de la muestra: Efecto de la temperatura

- Los factores coagulantes como los anticoagulantes naturales y las plaquetas se convierten en lábiles en un entorno *ex vivo*.
- Estos componentes pueden sufrir una degradación *in vitro* o activación, dependiente de la  $T^{\circ}$  y el tiempo.
- FVIII y la proteína S son factores particularmente lábiles que son propensos a la degradación, tal que la pérdida de actividad se produce 4 a 6 horas, si la sangre se mantiene a  $T^{\circ}$  ambiente.



## Estabilidad de la muestra: Efecto de la temperatura

- Por otro lado, la activación en frío de FVII puede resultar en una elevación de la actividad en un 150% o más, con disminución del TP.
- La activación en frío de las muestras de sangre también puede conducir a una pérdida, clínicamente significativa, de FVIII y factor von Willebrand (FVW)



# Centrifugación/separación: Obtención de plasma pobre en plaquetas

- El **PPP** es el tipo de muestra usada en la mayoría de las pruebas de coagulación.
- La lisis de plaquetas por congelamiento del plasma libera fosfolípidos.
- Esta etapa es crítica para evitar la activación o resultados falsos en la prueba de anticoagulante lúpico.



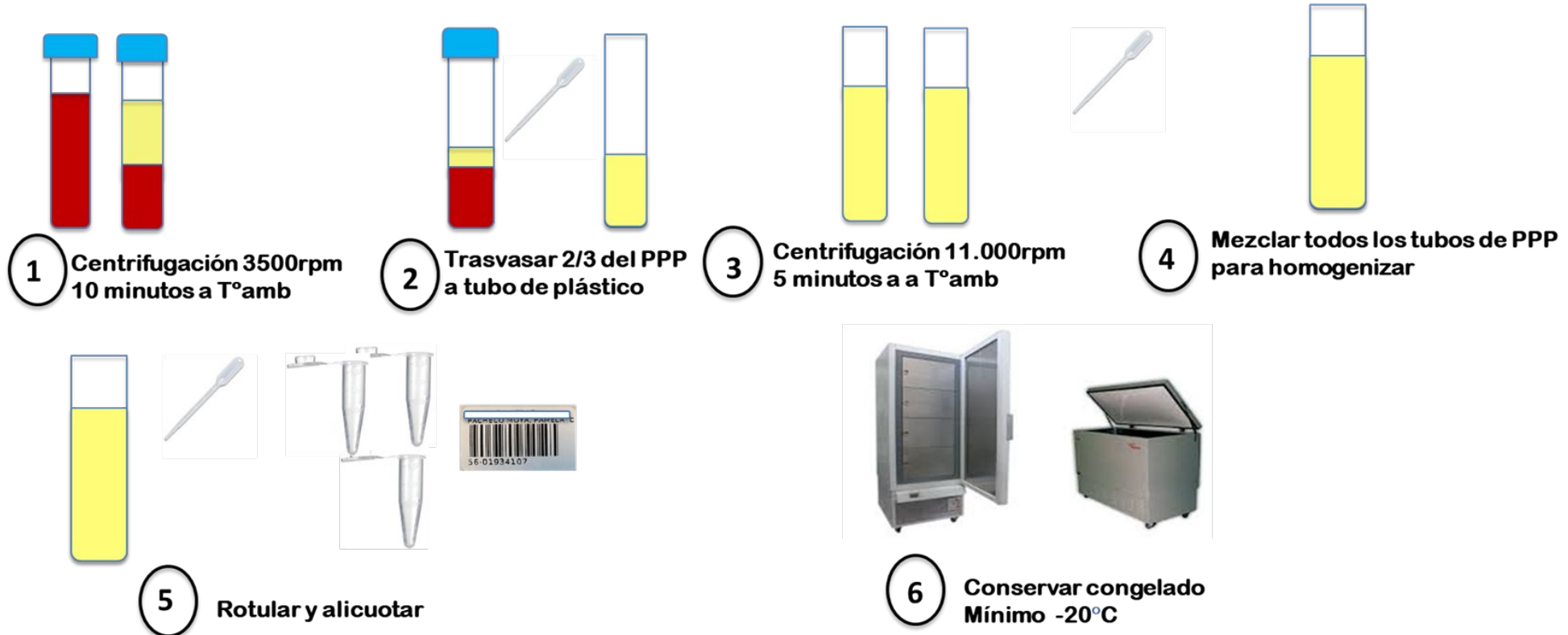


## Centrifugación/separación: Obtención de plasma pobre en plaquetas

- **Recomendación:** hacer una doble centrifugación (sin freno): 15-20 minutos cada vez, a 3.500 rpm (1.500 g) a T° ambiente (18-24 °C).
- Separe el plasma usando pipetas plásticas y distribuya en tubos plásticos.
- El PPP debe tener un recuento plaquetario < 10.000 plaquetas/uL.
- No usar filtros.



# Centrifugación/separación: Obtención de plasma pobre en plaquetas



# Conservación /Congelamiento

- Mantener las muestras tapadas para evitar cambios de pH. Se debe evitar cambios de temperatura.
- Procesar las muestras antes de 4 horas, y posterior a la centrifugación se deben congelar inmediatamente.
- El congelamiento debe ser rápido y a la menor temperatura posible.
- Antes del análisis, las muestras congeladas, se deben descongelar en un baño a 37°C, aproximadamente 5 min, hasta una completa descongelación. Observar las muestra por presencia de coágulos o crioprecipitados.
- Mezcle antes de analizar.

A T. ambiente	Horas
A -20°C	Días/semanas
A -80°C	Semanas/meses



# Causas del Rechazo de la Muestras

- Coagulada
- Recogida en el anticoagulante equivocado
- Proporción incorrecta de sangre/anticoagulante (llenado insuficiente o excesivo)
- No etiquetada o mal etiquetada
- Recogido o almacenado en contenedores que no tengan una superficie no activadora
- Severamente hemolizada
- Muestra de sangre total que se congelaron antes de procesarlas (pruebas de TP, FvW y FVIII)



## Consideraciones finales

- Los errores en la obtención de la muestra van desde la incorrecta identificación de la muestra hasta la obtención de muestras hemolizadas o el uso inapropiado de anticoagulantes.
- Alrededor del 8 % de errores en el nombre del paciente, edad, sexo y número de identificación, no se detecta aún con chequeos manuales extensivos.



## Consideraciones finales

- Se debe evitar el deterioro de la muestra mediante los procesos de obtención, manipulación transporte y conservación.
- Debemos adoptar y cumplir con las recomendaciones internacionales como la guía CLSI H21, como también las del laboratorio.
- Debemos tener un plan de capacitación al personal de las tomas de muestras





Gracias por su atención

¿PREGUNTAS?



# VI CONGRESO LATINOAMERICANO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

## II CONGRESO INTERNACIONAL DEL COLEGIO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA

*¡El riesgo es que te quieras quedar!*

**Cartagena, Colombia 3 al 6 OCTUBRE 2024**

