

HOSPITAL PEDIATRICO DOCENTE "SAN MIGUEL DEL PADRON"

## **Estabilidad de algunos indicadores hematológicos en sangre refrigerada**

*Lic. José R. Ramos Vázquez, Lic. Manuel Morejón Campa, Dra. Annabel Rodríguez Martínez, Téc. Marta Santisteban Rondón, Téc. Teresa Argüelles Mederos, Téc. Aída Pérez Lorenzo\**

Ramos Vázquez, J. R. y otros: *Estabilidad de algunos indicadores hematológicos en sangre refrigerada.*

Se estudia la estabilidad de 4 indicadores hematológicos: hemoglobina, eritrocito fracción de volumen (EFV), leucocitos concentración numérica (cnum) y eritrocitos concentración numérica (cnum), en sangre almacenada en refrigeración a 4°C, utilizando 3 anticoagulantes diferentes: heparina sódica, etilendiaminotetraacético (EDTA) sal sódica y EDTA sal dipotásica. Se comparan los resultados estadísticamente y se concluye que el EDTA dipotásico es el anticoagulante con el cual se logra mayor estabilidad, además de ser más económico que la heparina sódica. Se sugiere ampliar el uso del EDTA dipotásico como anticoagulante y emplear las muestras tomadas con el mismo como elemento para el control de la calidad en Hematología y para optimizar la atención a los pacientes.

### **INTRODUCCION**

En nuestro medio, el control de la calidad en la esfera hematológica se ha limitado a la realización de muestras duplicadas, debido a las dificultades que implica la obtención de controladores estables que permitan practicar el estudio de la precisión mediante las técnicas de reproducibilidad.

No pocos han sido los esfuerzos realizados en la búsqueda de materiales de control adecuados, para desarrollar el estudio de la precisión de las

investigaciones hematológicas sobre una base más rigurosa que la que se obtiene mediante la duplicidad de muestras.

Dentro de las líneas en estudio, se destaca la tendencia a utilizar las muestras de los propios pacientes como material de control, lo cual se sustenta sobre bases económicas, y se ha trabajado en la búsqueda de los anticoagulantes más apropiados y las temperaturas idóneas de almacenaje para lograr la estabilidad de los indicadores hematológicos en las muestras por un período mayor.

En 1968, *Lampasso*<sup>1</sup> estudió la estabilidad de varios indicadores hematológicos utilizando EDTA potásico como anticoagulante a las 5; 24 y 48 horas posteriores a la toma de muestra, tanto en sangre refrigerada a 4°C como a la temperatura de 23 °C. El autor no encontró cambios significativos en los valores de hemoglobina, leucocitos cnum y eritrocitos cnum para las muestras conservadas a 4°C.

En 1969, *Geoffrey y colaboradores*<sup>2</sup> estudiaron la estabilidad a temperatura ambiente y en refrigeración, de varios indicadores hematológicos a las 24 horas de tomadas las muestras con 4 anticoagulantes diferentes: EDTA dipotásico, EDTA disódico, heparina sódica y mezcla de oxalatos de Wintrobe. Los autores no encontraron diferencias significativas al utilizar las sales de EDTA, pero confrontaron diferencias importantes en la concentración numérica de leucocitos cuando se empleó heparina sódica como anticoagulante.

*Kennedy*,<sup>3</sup> en 1981, determinó la estabilidad de la concentración numérica de leucocitos y hematíes utilizando EDTA disódico y EDTA tripotásico como anticoagulantes en los tiempos 15; 30; 45, 60 y 90 minutos y a las 2; 3; 4 y 5 horas posteriores a la toma de muestras, y no encontró diferencias de significación en ningún caso respecto al momento de la extracción.

También en 1981, *Cohle y colaboradores*<sup>4</sup> determinaron la estabilidad de varios indicadores hematológicos en sangre refrigerada a 4°C y a temperatura ambiente, utilizando EDTA tripotásico como anticoagulante durante 3 días posteriores a la toma de muestra. Este autor no encontró diferencias significativas para la hemoglobina, eritrocitos fracción de volumen y eritrocitos cnum durante los 5 días para las muestras refrigeradas. Se detectaron diferencias en la concentración numérica de leucocitos a partir del cuarto día.

En el presente trabajo, hemos comparado la estabilidad de 4 indicadores hematológicos en sangre refrigerada a 4°C, utilizando 3 anticoagulantes diferentes. Además, se analiza la posibilidad de empleo de las muestras-refrigeradas a 4°C, con el anticoagulante que permita mayor estabilidad, como elemento para el control de la calidad de las investigaciones hematológicas y las potencialidades que brinda el almacenaje de las muestras a 4 C para la aplicación de una metodología que permita optimizar el servicio que brindan nuestros laboratorios a la población.

## MATERIAL Y METODO

Una vez por semana, se colectaron 100 ml de sangre con el anticoagulante correspondiente de un donante atendido en el banco de sangre municipal. Esta muestra se distribuyó en 50 bulbos con tapa de goma y se

rotularon en grupos de 10 con los números del 1 al 5; posteriormente se guardaron a la temperatura del refrigerador (4°C) los bulbos rotulados del 2 al 5. Esta operación fue repetida en 3 oportunidades, a fin de realizar el estudio con 3 anticoagulantes diferentes: heparina sódica, 50 unidades/ml/ sangre;<sup>5</sup> EDTA dipotásico, 0,01 ml/ al 15 %/ml/ de sangre<sup>4</sup> y EDTA disódico; 1 mg/ml/ de sangre.<sup>5</sup>

El mismo día en que se realizaba la toma de muestra, se procesaban los primeros 10 bulbos a los cuales se les determinaba: hemoglobina, método de cianometahemoglobina;<sup>7</sup> EFV, método de microhematócrito;<sup>6</sup> concentración numérica de leucocitos y eritrocitos, método automatizado.<sup>8</sup>

Diariamente los bulbos eran extraídos del refrigerador y rotados sobre una superficie plana durante 5 minutos, se separaban del total los 10 que se debían procesar ese día y el resto se reintegraba al refrigerador.

De esta forma se contó con 10 valores diarios durante 5 días para cada indicador, con el anticoagulante seleccionado; a cada grupo de 10 valores se le determinó la media (x) y la desviación estándar (DE); se procedió posteriormente a aplicar la prueba de Fisher y Student<sup>5</sup> entre los resultados del segundo, tercero, cuarto y quinto días respecto al primero para cada anticoagulante, con el fin de determinar la existencia o no de diferencias estadísticamente significativas.

Paralelamente se realizaba un análisis de los costos de los anticoagulantes usados, con vistas a determinar el más económico.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos referentes a la estabilidad de los indicadores hematológicos estudiados en sangre almacenada a 4°C utilizando heparina sódica como anticoagulante, son informados en la tabla 1.

Tabla 1. Valores medios de las muestras almacenadas a 4°C, utilizando heparina sódica como anticoagulante

Indicador	1	2	3	4	5
Hemoglobina, concentración de masa	137,5 <sup>a</sup>	139,8 <sup>b</sup>	139,0 <sup>b</sup>	139,5 <sup>b</sup>	140,7 <sup>b</sup>
Eritrocito, fracción de volumen	0,46 <sup>a</sup>	0,46 <sup>a</sup>	0,47 <sup>a</sup>	0,47 <sup>a</sup>	0,46 <sup>a</sup>
Leucocitos, concentración numérica	6,6 <sup>a</sup>	5,5 <sup>b</sup>	4,5 <sup>b</sup>	5,5 <sup>b</sup>	5,1 <sup>b</sup>
Eritrocitos, concentración numérica	5,46 <sup>a</sup>	4,43 <sup>b</sup>	4,34 <sup>b</sup>	4,38 <sup>b</sup>	4,80 <sup>b</sup>

Nota: Letras iguales indican identidad estadística (P < 0,05).

La hemoglobina, la concentración numérica de leucocitos y eritrocitos, presentaron diferencias significativas con respecto al primer día. Los valores de hemoglobina obtenidos presentaron una tendencia a aumentar durante el estudio, mientras que los valores de concentración numérica de leucocitos y eritrocitos disminuyeron. El eritrocito fracción de volumen se mantuvo estable durante toda la experiencia.

En la literatura consultada encontramos una sola referencia relativa al uso de heparina sódica como anticoagulante,<sup>2</sup> para la determinación de la concentración numérica de leucocitos; nuestros resultados se corresponden con los informados por dicho autor.

Al observar los resultados obtenidos utilizando EDTA disódico como anticoagulante, encontramos gran estabilidad de los indicadores estudiados en las muestras almacenadas a 4°C durante 4 días (tabla 2). Solamente fueron encontradas diferencias de significación estadística en la determinación de la hemoglobina a partir del segundo día de almacenaje.

Tabla 2. Valores medios de las muestras almacenadas a 4°C, utilizando EDTA disódico como anticoagulante

Indicador	1	2	3	4	5
Hemoglobina, concentración de masa	138,8 <sup>a</sup>	138,5 <sup>a</sup>	143,9 <sup>b</sup>	144,1 <sup>b</sup>	146,3 <sup>b</sup>
Eritrocitos, fracción de volumen	0,44 <sup>a</sup>	0,44 <sup>a</sup>	0,44 <sup>a</sup>	0,43 <sup>a</sup>	0,44 <sup>a</sup>
Leucocitos, concentración numérica	9,2 <sup>a</sup>	9,0 <sup>a</sup>	9,3 <sup>a</sup>	8,9 <sup>a</sup>	9,5 <sup>a</sup>
Eritrocitos, concentración numérica	4,73 <sup>a</sup>	4,80 <sup>a</sup>	4,74 <sup>a</sup>	4,54 <sup>a</sup>	4,91 <sup>a</sup>

Nota: Letras iguales indican identidad estadística (P < 0,05).

Geoffrey<sup>2</sup> no encontró diferencias significativas en los indicadores hematológicos a las 24 horas de tomadas las muestras utilizando EDTA disódico. Kennedy<sup>3</sup> tampoco encontró diferencias utilizando EDTA disódico hasta 5 horas después de colectadas las muestras.

En la tabla 3 se informan los valores medios para los indicadores estudiados en la muestra tomada con EDTA dipotásico como anticoagulante. Se observa estabilidad de significación estadística durante todo el estudio para el eritrocito fracción de volumen, la concentración numérica de leucocitos y eritrocitos; la hemoglobina fue estable hasta el segundo día posterior a la toma de muestra.

Tabla 3. Valores medios de las muestras almacenadas a 4°C, utilizando EDTA dipotásico como anticoagulante

Indicador	1	2	3	4	5
Hemoglobina, concentración de masa	143,5 <sup>a</sup>	143,9 <sup>a</sup>	145,2 <sup>a</sup>	146,2 <sup>a</sup>	146,0 <sup>b</sup>
Eritrocitos, fracción de volumen	0,47 <sup>a</sup>	0,46 <sup>a</sup>	0,46 <sup>a</sup>	0,47 <sup>a</sup>	0,47 <sup>a</sup>
Leucocitos, concentración numérica	8,5 <sup>a</sup>	8,4 <sup>a</sup>	8,3 <sup>a</sup>	8,4 <sup>a</sup>	8,5 <sup>a</sup>
Eritrocitos, concentración numérica	5,11 <sup>a</sup>	5,10 <sup>a</sup>	5,06 <sup>a</sup>	5,22 <sup>a</sup>	4,98 <sup>a</sup>

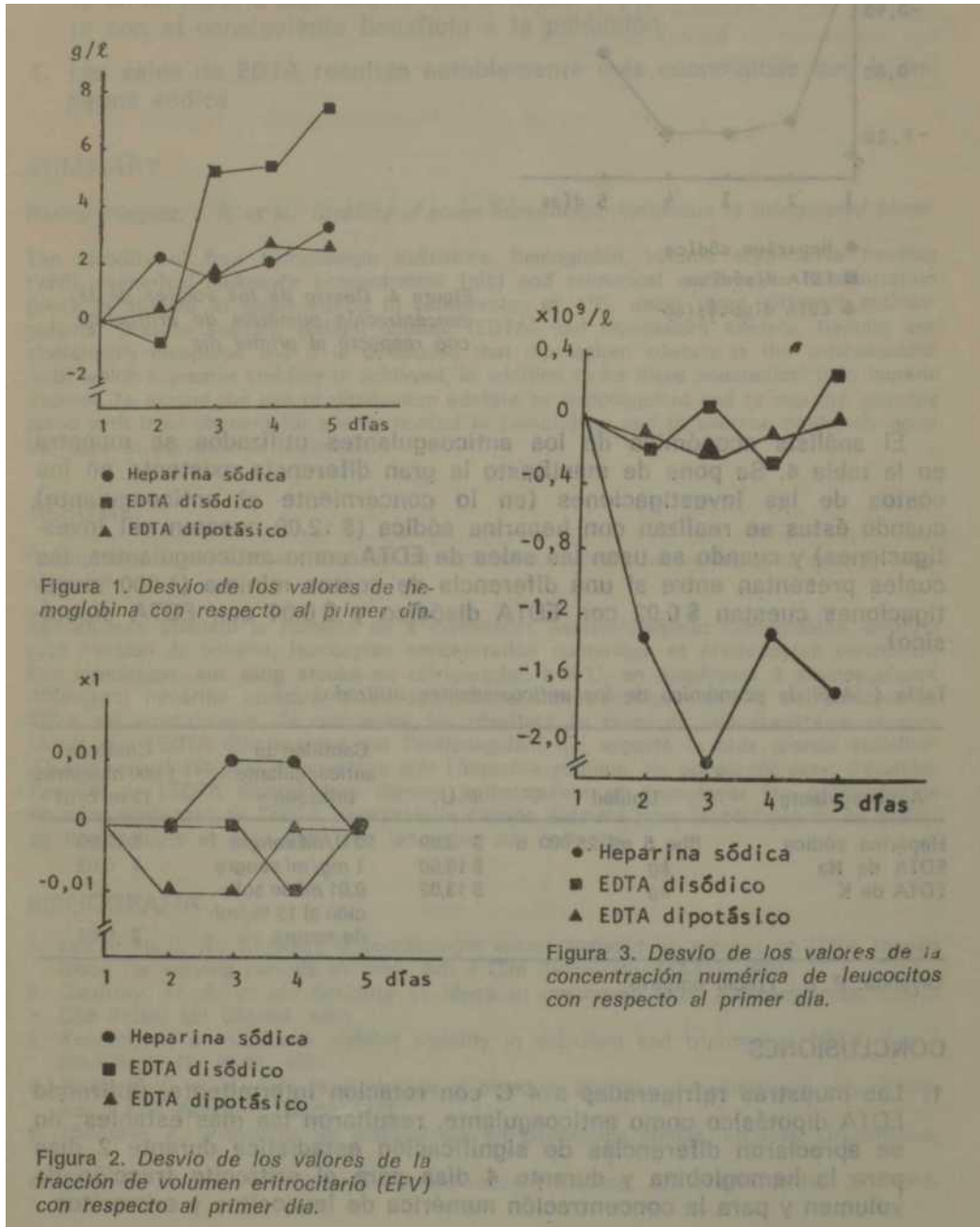
Nota: Letras iguales indican estabilidad estadística (P < 0,05).

Si se comparan nuestros resultados con los obtenidos por *Cohle y colaboradores*<sup>4</sup> para EDTA dipotásico, encontramos similitud en conducta para los indicadores eritrocito fracción de volumen y eritrocito concentración numérica. Este autor encontró diferencias significativas en la concentración numérica de leucocitos al cuarto día de almacenada la sangre a 4 °C, lo cual no fue registrado por nosotros. *Cohle* obtuvo estabilidad en los valores de hemoglobina durante toda su experiencia, mientras que nosotros registramos diferencias significativas para este indicador a partir del tercer día.

En nuestro trabajo la determinación de hemoglobina fue manual, lo cual, debido a la mayor imprecisión con respecto al método automatizado

utilizado por *Cohle*, pudiera ser causa de las diferencias encontradas respecto a este autor.

Las figuras permiten apreciar el desvío respecto al valor inicial de cada indicador con cada uno de los anticoagulantes utilizados (figuras 1-4).



El análisis económico de los anticoagulantes utilizados se muestra en la tabla 4. Se pone de manifiesto la gran diferencia existente en los costos de las investigaciones (en lo concerniente al anticoagulante) cuando éstas se realizan con heparina sódica (\$12.00 cuestan mil investigaciones) y cuando se usan las sales de EDTA como anticoagulantes, las cuales presentan entre si una diferencia de costos mínima (1 000 investigaciones cuestan \$0,02 con EDTA disódico y \$0,04 con EDTA dipotásico).

Tabla 4. Análisis económico de los anticoagulantes utilizados

Anticoagulante	Unidad	P. U.	Cantidad de anticoagulante utilizado	Costo de 1 000 muestras (2 ml c/u)
Heparina sódica	Bbo 5 ml 25 000 u	\$ 3,00	50 U/ml sangre	\$ 12,00
EDTA de Na	kg	\$ 10,60	1 mg/ml sangre	\$ 0,02
EDTA de K	kg	\$ 13,02	0,01 ml de solución al 15 %/ml de sangre	\$ 0,04

Leyenda: P. U.: Precio unitario.

## CONCLUSIONES

1. Las muestras refrigeradas a 4°C con rotación intermitente, utilizando EDTA dipotásico como anticoagulante, resultaron las más estables; no se apreciaron diferencias de significación estadística durante 2 días para la hemoglobina y durante 4 días para el eritrocito fracción de volumen y para la concentración numérica de leucocitos y eritrocitos.

2. Dada su estabilidad, las muestras almacenadas a 4°C utilizando EDTA dipotásico como anticoagulante, resultan útiles para el control de la calidad de las investigaciones hematológicas.
3. El empleo de las sales de EDTA como anticoagulante para preservar las muestras hematológicas, permitiría realizar la extracción al paciente en un horario más amplio que el actual y procesarlas al día siguiente con el consiguiente beneficio a la población.
4. Las sales de EDTA resultan notablemente más económicas que la heparina sódica.

## SUMMARY

Ramos Vázquez, J. R. et al.: *Stability of some hematologic indicators in refrigerated blood.*

The stability of four hematologic indicators, hemoglobin, volume erythrocyte fraction (VEF), numerical leukocyte concentration (nlc) and numerical erythrocyte concentration (nec), is studied in blood stored in refrigerator at 4°C, using three different anticoagulants: heparin sodium, sodium edetate (EDTA) and dipotassium edetate. Results are statistically compared and it is concluded that dipotassium edetate is the anticoagulant with which a greater stability is achieved, in addition to be more economical than heparin sodium. To extend the use of dipotassium edetate as anticoagulant and to use the samples taken with it as element for quality control in hematology and to become eminently good the care to patients, is suggested.

## RÉSUMÉ

Ramos Vázquez, J. R. et al.: *Stabilité de certains indicateurs hématologiques dans le sang réfrigéré.*

Les auteurs étudient la stabilité de 4 indicateurs hématologiques: hémoglobine, érythrocyte fraction de volume, leucocytes concentration numérique et érythrocytes concentration numérique, sur sang stocké en réfrigération à 4°C, en employant 3 anticoagulants différents: héparine sodique, acide éthylènediaminetétracétique (EDTA) sel sodique et EDTA sel dipotassique. Ils comparent les résultats du point de vue statistique et concluent que l'EDTA dipotassique est l'anticoagulant qui apporte la plus grande stabilité; d'autre part, il est plus économique que l'héparine sodique. Ils suggèrent donc d'étendre l'emploi de l'EDTA dipotassique comme anticoagulant et d'employer les prélèvements de sang contenant de l'EDTA dipotassique comme élément pour le contrôle de la qualité en Hématologie et pour optimiser les soins aux patients.

## BIBLIOGRAFIA

1. *Lampasso, J. A.*: Changes in hematologic values induced by storage of EDTA human blood for varying periods of time. *Am J Clin Pathol* 49: 443-447, 1968.
2. *Geoffrey, M. B. et al.*: Stability of blood in commonly used anticoagulants. *Am J Clin Pathol* 52: 690-694, 1969.
3. *Kennedy, J. B.*: Cell and platelet stability In didodium and tripotassium EDTA. *Am J Med Tech* 47: 89-93, 1981.
4. *Cohle, S. D. et al.*: Effects of storage of blood on stability of hematologic parameters. *Am J Clin Pathol* 76: 67-69, 1981.
5. *Thilmann, K.*: Principios de metodología en bioquímica clínica. Editorial Organismos, 1973.
6. *Strumia, M. M.*: An improved microhematocrit method. *Am J Clin Pathol* 24: 1016- 1024, 1954.

7. Van Kampen, E. J.W.G. Zyltra: Standardization of hemoglobinometry globinamide method.

Clin Chem Acta 6: 538, 1986.

8. Manual de operaciones del Microcell Counter ' CC-110.

Recibido: 28 de marzo de 1985

Aprobado: 3 de noviembre de 1985

Lic. *José R. Ramos Vázquez*  
Calle 4ta No. 18305 entre Alamos y D  
2da. Ampliación de Alturas de Luyanó,  
Ciudad de La Habana  
Cuba