

Afección preanalítica en pruebas de hemostasia en pediatría

Preanalytical condition in hemostasy tests in pediatrics

Rodríguez-López A^{*1a}, Corona-Olivares A^{1b}, Núñez-Martínez ME^{1c}

RESUMEN

Introducción: Existen muchas variables preanalíticas que afectan los resultados de los ensayos de hemostasia basados en plasma. Decisiones importantes de diagnóstico y tratamiento se basan en estos resultados, de ahí la importancia de tomar acciones para disminuir estas variables y hacer uso de guías internacionales que estandarizan estos procedimientos.

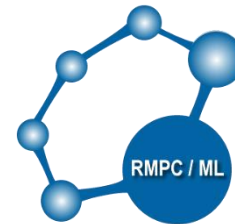
Los tubos para pruebas de hemostasia con citrato de sodio al 3.2% se recolectan, manteniendo la proporción entre la sangre y el anticoagulante de 9:1. La falta de citrato da lugar a la formación de microcoágulos o coagulación total de la muestra. El exceso de citrato conduce a un posible efecto dilucional, distorsionando los resultados; los tiempos en segundos tienden a aumentar.

En pacientes con valores de hematocrito superiores a 55% la proporción sangre/anticoagulante es menor de 9:1, provocando un exceso de citrato para el volumen de plasma presente en el tubo. En estos casos el volumen de citrato en el tubo de recolección se debe ajustar, usando una fórmula.¹

Objetivo: Reflejar el impacto de corrección en los resultados de INR, al realizar el ajuste del volumen de anticoagulante, por las implicaciones de diagnóstico y tratamiento en pacientes pediátricos.

Material y métodos: Estudio retrospectivo, se analizó la base de datos de pacientes menores de 10 años atendidos en el centro pediátrico del corazón Kardias del Centro Médico ABC, Campus Observatorio, del año 2022 al 2023, con hematocrito >55% y solicitud de tiempos de coagulación, con resultados de INR calculado automáticamente en sistema de hemostasia con metodología foto-óptica.

Resultados: A partir de los datos recabados, se seleccionaron 20 pacientes que cumplieron con los criterios especificados. Se compararon los resultados de INR obtenidos en la toma de muestra inicial, sin ajustar el volumen de citrato, y los resultados después de ajustar el volumen obteniéndose los datos descritos en la Tabla 1. Todos los resultados de INR se corrigieron al emplear la fórmula para calcular el volumen de anticoagulante necesario, en función del porcentaje de hematocrito y el volumen total de muestra a tomar.



ARTÍCULO ORIGINAL

Revista Mexicana de **Patología Clínica** y Medicina de Laboratorio

Rev Mex Patol Clin Med Lab. 2023; Volumen 70, Número 1

The American British Cowdray Medical Center IAP. Centro Médico ABC Campus Observatorio, Cd Mx, México.

Créditos:

- Redacción del artículo.
- Interpretación de los datos.
- Revisión crítica del contenido y aprobación final.

Dirección para correspondencia

Sur 136 116, Las Américas, Álvaro Obregón, CDMX.
E-mail: arodriguezl@abchospital.com

PALABRAS CLAVE

anticoagulante, paciente pediátrico, fórmula, hematocrito, corrección.

KEYWORDS

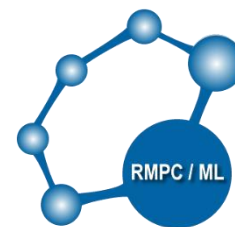
anticoagulant, pediatric patient, formula, hematocrit, correction

RECEPCIÓN: 14 de abril de 2024

ACEPTACIÓN: 4 de junio de 2024



Conclusiones: Existe una gran diferencia en los resultados de pruebas de hemostasia, específicamente el INR, si ajustamos la variable preanalítica del volumen de anticoagulante al realizar la toma de muestra en pacientes pediátricos con hematocrito >55%. La corrección de los resultados trasciende a diferentes tratamientos en el paciente pediátrico en estado crítico.



Abstract

Introduction: Many preanalytical variables affect the results of plasma-based hemostasis assays. Important diagnostic and treatment decisions are based on these results, hence the importance of taking actions to reduce these variables and making use of international guidelines that standardize these procedures.

Hemostasis test tubes with 3.2% sodium citrate are collected, maintaining the blood to anticoagulant ratio of 9:1. The lack of citrate leads to the formation of micro clots or total coagulation of the sample. Excess citrate leads to a possible dilution effect, distorting the results, times in seconds tend to increase.

In patients with hematocrit values greater than 55%, the blood/anticoagulant ratio is less than 9:1, causing an excess of citrate for the volume of plasma present in the tube. In these cases, the volume of citrate in the collection tube must be adjusted, using a formula.¹

Objective: Reflect the impact of correction on INR results, when adjusting the volume of anticoagulant, due to the implications of diagnosis and treatment in pediatric patients.

Material and methods: Retrospective study, the database of patients under 10 years of age, treated at the pediatric heart center, Kardias of the ABC Medical Center, observatory campus, from the year 2022 - 2023, was analyzed. With hematocrit >55 percentage and request of coagulation times, with INR results, automatically calculated in a hemostasis system with photo-optical methodology.

Results: From the data collected, 20 patients who met the specified criteria were selected. The INR results obtained at the initial sampling, without adjusting the citrate volume, and the results after adjusting the volume were compared. Obtaining the data described in Table 1. All INR results were corrected by using the formula to calculate the volume of anticoagulant needed based on the percentage of hematocrit and the total volume of sample to be taken.

Conclusions: There is a great difference in the results of hemostasis tests, specifically the INR, if we adjust the pre-analytical variable of the volume of anticoagulant when taking the sample, in pediatric patients with hematocrit >55%. The correction of the results transcends to different treatments in the pediatric patient in critical condition.

ARTÍCULO ORIGINAL

INTRODUCCIÓN

Hemostasia

La hemostasia es un sistema complejo de reacciones en cadena con 2 funciones principales:

1. Mantener la sangre fluida dentro de los vasos sanguíneos.
2. Detener procesos hemorrágicos en el momento que ocurre una lesión. La activación del sistema homeostático inicia con la exposición del factor tisular en el momento en que ocurre una lesión, activando la vía extrínseca de la coagulación.

La hemostasia para su estudio, se divide en fases, vascular, primaria, secundaria, regulación antitrombótica y fibrinólisis. Pero hay que considerar que todas estas fases se realizan de forma simultánea². La hemostasia primaria implica la adhesión, activación y agregación plaquetaria al endotelio vascular dañado, formando un tapón que detiene el sangrado temporalmente. La hemostasia secundaria implica la activación que da como resultado la formación de un tapón más estable de fibrina. Finalmente, a medida que se repara el vaso, el coágulo se descompone en la fase fibrinolítica.

En la Figura 1 se detallan las reacciones que se activan en cadena para completar el proceso de la hemostasia y el ensayo de coagulación que realiza la medición *in vitro*.

Ensayos para medir *in vitro* la hemostasia secundaria

Se encuentran disponibles diferentes ensayos para medir *in vitro* las pruebas de coagulación, incluidas el Tiempo de Protrombina (TP), Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPA), entre otras.³

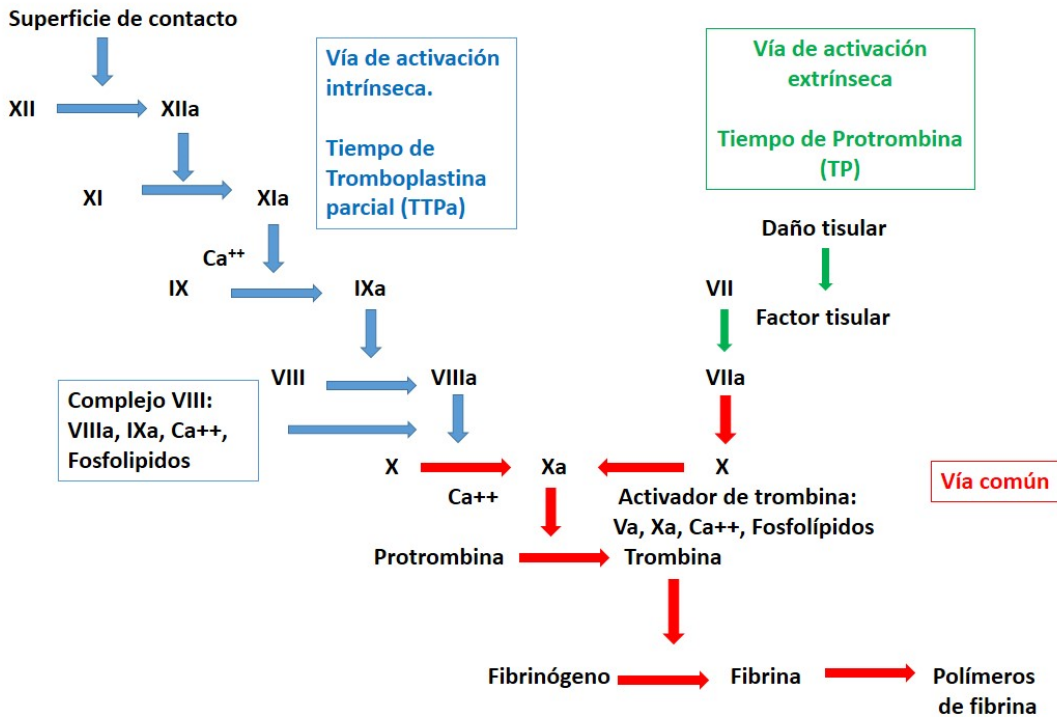


FIGURA 1. Mecanismo de la hemostasia.

Índice Internacional Normalizado (INR)

Método de notificación estandarizado y desarrollado para comparar los resultados de la prueba de tiempo de protrombina.⁴

Corrige las diferencias entre laboratorios que utilizan distintos reactivos de tromboplastina y sistemas de medición, reduce la variación y proporciona resultados clínicamente útiles.

Cálculo:

$$INR = (TP \text{ del paciente} / TP \text{ normal medio}) ^{ISI}$$

El TP normal medio es la media geométrica del TP de al menos 20 sujetos sanos, obtenido a través del sistema de recogida de sangre y analizado con la misma marca y lote de tromboplastina que el ISI en uso.

Índice de sensibilidad internacional (ISI)

Valor obtenido y proporcionado por el fabricante de la tromboplastina, después de calibrar su reactivo frente a una preparación de referencia internacional (tromboplastina de referencia estándar).⁵

Variables preanalíticas que afectan los ensayos de hemostasia basados en plasma.

La fase preanalítica incluye todos los procesos desde la solicitud de la prueba hasta el momento en que la muestra está lista para su análisis.

La precisión de los ensayos de coagulación puede verse afectada por diversas variables, la preparación del paciente, identificación y recolección de la muestra, volumen, concentración del anticoagulante, transporte, almacenamiento, entre otras.⁶

Recomendaciones de la guía CLSI H21-A5

Relación sangre/ anticoagulante:

Las muestras para ensayos de coagulación deben recolectarse en tubos que tengan superficies no activantes, con citrato de sodio al 3.2% como anticoagulante.

La proporción de sangre con respecto al volumen del anticoagulante es de 9:1, estipulado en los tubos de recolección.

El llenado inadecuado disminuye esta proporción conduciendo a resultados inexactos.

En pacientes con valores de hematocrito superiores a 55% la proporción sangre/anticoagulante es menor de 9:1, provocando un exceso de citrato para el volumen de plasma presente en el tubo y un posible efecto dilucional. En estos casos el volumen de citrato en el tubo de recolección se debe ajustar, usando la siguiente fórmula:

$$C = (1.85 \times 10^{-3}) (100-HCT) (V \text{ Sangre})$$

Donde:

C: Volumen de citrato que queda en el tubo

HCT: Hematocrito del paciente

V: Volumen de sangre (2.7 mL)

1.85×10^{-3} : Constante

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio retrospectivo; se analizaron las bases de datos de pacientes pediátricos atendidos en el Centro Pediátrico del Corazón Kardias del Centro Médico ABC, Campus Observatorio, correspondientes a los años 2022 - 2023.

Se seleccionaron los que cumplieron los siguientes criterios:

- Edad < 10 años
- Hematocrito > 55 %
- Con solicitud de tiempos de coagulación: tiempo de protrombina e INR.
- Con datos de corrección del volumen del anticoagulante en el tubo de recolección.

La medición del INR se realizó en equipo automatizado para ensayos de coagulación que utiliza tecnología de medición foto-óptica.

El ajuste del volumen de citrato requerido, en función del hematocrito (específico del paciente) y del volumen total de sangre a recolectar, se ajustó empleando la fórmula recomendada por la guía del CLSI H21-A5.

Los análisis comparativos de datos se realizaron empleando el programa de Microsoft Excel.

RESULTADOS

Se incluyeron datos de 20 pacientes que cumplieron con los criterios especificados. El 65% (13 datos) corresponde a niños, el 35% restante (7 datos) corresponden a niñas.

La muestra inicial se tomó utilizando un tubo de citrato de sodio de 2.7 mL, conteniendo 300 µL del anticoagulante; para la segunda toma de muestra se colocó solamente la cantidad necesaria, calculada con la fórmula.

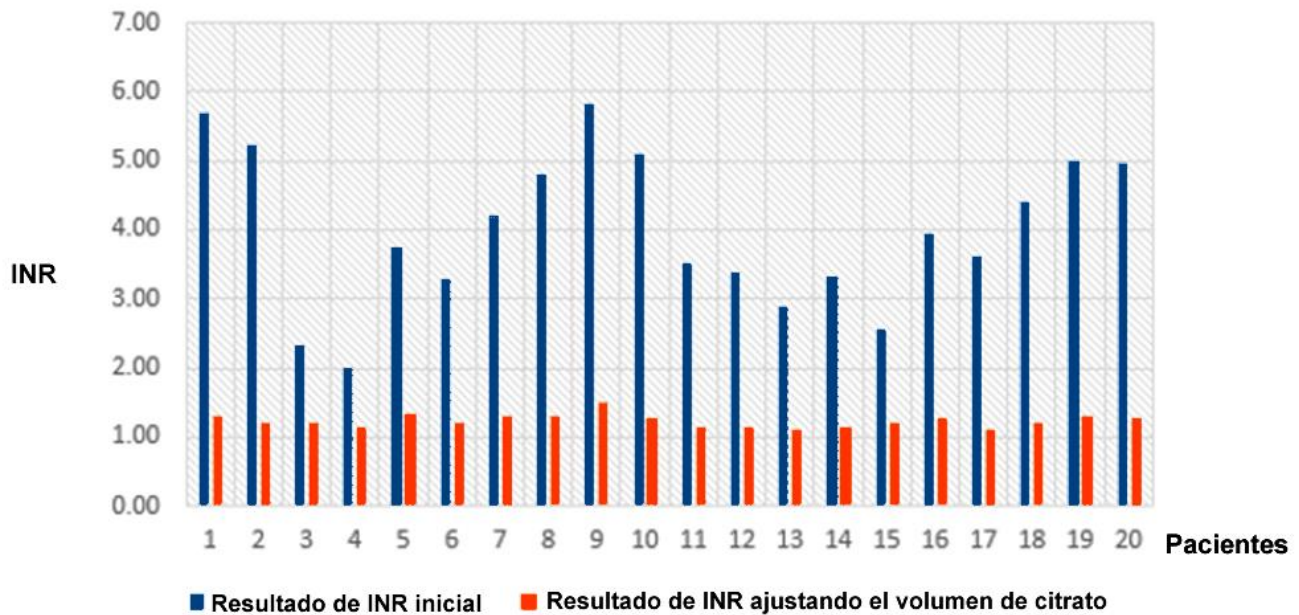
Se compararon los resultados de INR obtenidos en la toma de muestra inicial, sin ajustar el volumen de citrato, y los resultados después de ajustar el volumen del anticoagulante obteniéndose los datos descritos en la Tabla 1.

TABLA 1. Resultados de datos analizados.

Paciente	Hematocrito del paciente	Volumen de citrato de sodio inicial	Resultado de INR inicial	Volumen de citrato de sodio ajustado	Resultado de INR ajustando el volumen de citrato
1	76.30	300 µL	5.7	118 µL	1.32
2	73.60	300 µL	5.23	132 µL	1.21
3	68.80	300 µL	2.32	156 µL	1.22
4	59.00	300 µL	2.01	205 µL	1.13
5	63.30	300 µL	3.74	183 µL	1.33
6	60.10	300 µL	3.30	199 µL	1.21
7	71.10	300 µL	4.22	144 µL	1.30
8	69.60	300 µL	4.81	152 µL	1.32
9	75.40	300 µL	5.82	123 µL	1.52
10	70.20	300 µL	5.12	149 µL	1.28
11	66.20	300 µL	3.52	169 µL	1.15
12	65.70	300 µL	3.40	171 µL	1.13
13	62.50	300 µL	2.90	187 µL	1.10
14	60.30	300 µL	3.31	198 µL	1.14
15	58.10	300 µL	2.56	209 µL	1.22
16	61.80	300 µL	3.94	191 µL	1.29
17	64.70	300 µL	3.61	176 µL	1.11
18	71.20	300 µL	4.40	144 µL	1.21
19	67.20	300 µL	5.0	164 µL	1.31
20	66.80	300 µL	4.97	166 µL	1.28

Todos los resultados de INR se corrigieron al emplear la fórmula para calcular el volumen de anticoagulante necesario en función del porcentaje de hematocrito y el volumen total de muestra a tomar.

El % de hematocrito de los pacientes en estudio se encuentran en un rango de 58.10% hasta 76.30%, demostrando ser una variable de gran importancia, ya que los datos presentados tienen una tendencia de corrección mayor en los porcentajes de hematocrito más alto. Ver Gráfica 1.



GRÁFICA 1. Comparativo de resultados de INR por paciente.

DISCUSIÓN

La disminución de los resultados de INR al ajustar el volumen de citrato en el tubo de recolección, se atribuye al efecto dilucional que produce el anticoagulante en pacientes con hemoconcentración, por la poca cantidad de plasma que se obtiene al centrifugar la muestra. Por tanto, teóricamente como lo describe la guía del CLSI-H21-A51, en caso de no ajustar el volumen del anticoagulante los tiempos de coagulación tienden a aumentar.

De acuerdo a nuestros datos recabados, el ensayo de hemostasia en el que observamos notablemente esa corrección es el tiempo de protrombina, expresado en INR; todos los pacientes presentaron una disminución en el resultado, en diferentes proporciones, de acuerdo al porcentaje de hematocrito y de condiciones variables específicas de la clínica y la fisiología individual del paciente pediátrico.

Al analizar el comparativo de los datos por paciente y el grado de corrección del valor del INR, se sugiere que se ajuste la variable preanalítica del volumen del anticoagulante, al recolectar la muestra en todos los pacientes pediátricos que presentan

un porcentaje de hematocrito >55 , por las implicaciones de diagnóstico y tratamiento que los ensayos de hemostasia representan.

El proceso para ajustar el volumen necesario de anticoagulante, para que no se exceda en la cantidad requerida de citrato de sodio, requiere de un dato en específico, el porcentaje de hematocrito del paciente. Esto representa una limitante por 2 motivos principales; primero, la recolección de muestras en pacientes pediátricos es compleja, y segundo, se requiere realizar una doble punción para recolectar la muestra con el volumen de anticoagulante ajustado. Sin embargo, es un procedimiento imprescindible en el laboratorio clínico para reportar resultados precisos.

Las pruebas de hemostasia deben realizarse con el más alto nivel de calidad, incluida la estandarización, implementación y seguimiento de todas las fases de la prueba, siendo la fase preanalítica el componente más crítico del proceso.⁷

Se sugiere dar continuidad a pacientes en un rango más amplio de edad, realizar el ajuste del volumen de anticoagulante, cuando se exceda el % de hematocrito, con la finalidad de tener datos de una población más amplia y, por tanto, un análisis más representativo por la poca disponibilidad de estudios y datos disponibles actualmente.

REFERENCIAS

1. Dorothy M. Adcock, MD. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays. Clinical and Laboratory Standards Institute 2008. 5th Edition.
2. González VA, Peña DA, Rojas LM, López VN, Ustarroz CM, García PI, et al. (2020). Fisiología de la hemostasia y su alteración por la coagulopatía en COVID-19. Revista de la Facultad de Medicina (México), 63(5), 45-57. Epub 05 de marzo de 2021.
https://www.revistafacmed.com/index.php?option=com_phocadownload&view=file&id=1344:fisiologa-de-la-hemostasia-y-su-alteracin&Itemid=1
3. Zehnder, J.L. (2020). Clinical use of coagulation tests. In Tirnauer, J.S. (Ed.), UpToDate.
https://www.academia.edu/42022925/Clinical_use_of_coagulation_tests
4. Morales A. enero 2020. Determinación del INR. Licon.
<https://licon.com.mx/determinacion-del-inr/>

5. Lieberman M. 1988. NORMA Técnica número 283 para la identidad y especificidad de las tromboplastinas. DOF.
https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4724586&fecha=07/03/1988#gsc.tab=0.
6. Siesquen J. 2021. Relación entre las variables pre-analíticas y el desempeño de las pruebas del perfil de coagulación. Hospital de Lambayeque.
https://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13053/6496/T061_41959499_S.pdf?sequence=3.
7. Gosselin RC. Preanalytical Variables in Hemostasis Testing. *Methods Mol Biol.* 2023; 2663:39-50. doi: 10.1007/978-1-0716-3175-1_2. PMID: 37204702..
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37204702/>