

Comparación de parámetros hematológicos y morfología celular en muestras de sangre con EDTA K2 y EDTA K3

Comparison of hematological parameters and cellular morphology in blood samples with EDTA K2 and EDTA K3

Patricia E. Jaramillo-Arbeláez¹, Jannet Zapata-Bailarín², Yeny C. Mesa-Vásquez³, Mariana Ochoa-Ochoa⁴, Karen L. Arévalo-Acosta⁴

Resumen. Introducción. El EDTA es el anticoagulante de elección en los laboratorios de hematología para la conservación de la muestra de sangre total. Existen dos tipos, EDTA K2 y EDTA K3, y su diferencia radica en la cantidad de moléculas de potasio. Algunas guías sugieren que hay diferencias entre el anticoagulante EDTA K2 y el K3 para el proceso del hemograma; sin embargo, con las nuevas presentaciones de los tubos que traen las casas comerciales, no se tiene claro si en realidad aún hay diferencia entre los dos anticoagulantes, y si esto puede alterar el resultado del hemograma, tanto en el resultado cuantitativo, como en el cualitativo. **Objetivo.** Comparar los recuentos leucocitarios, la hemoglobina, el hematocrito, el volumen corpuscular medio, las plaquetas y la morfología celular en muestras de sangre periférica con EDTA K2 y EDTA K3, en diferentes tiempos (0, 1 y 2 horas). **Materiales y métodos.** Se realizó un estudio cuasi-experimental, multivariado, multifactorial, que tiene como unidad de análisis la sangre anticoagulada con EDTA K2 y EDTA K3, extraída de 53 individuos a través de un muestreo no probabilístico por conveniencia. **Resultados.** Al comparar los resultados del estudio morfológico por medio del extendido de sangre periférica y los datos cuantitativos del hemograma, se encontró que no hay diferencias estadísticamente significativas usando EDTA K2 o K3. **Conclusión.** Se evidenció que el uso del EDTA K2 o EDTA K3 como anticoagulante de elección, procesan-

¹ Bacterióloga, Especialista en Hematología y Banco de Sangre, MSc en Microbiología. Docente, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. E-mail: patelen17@gmail.com.

² Bacterióloga, Especialista en Estadística, MSc en Microbiología. Microbióloga, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

³ Bacterióloga. Directora Técnica del Laboratorio Clínica León XIII, Escuela de Microbiología de la Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

⁴ Microbiólogas y Bioanalistas, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

Conflicto de interés: las autoras declaran que no tienen conflicto de interés.

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

Recibido el 31 de julio de 2018; aceptado el 6 de enero de 2019. Editora Médica Colombiana S.A., 2020[©].

do las muestras en un tiempo adecuado después de su recolección, no afecta los parámetros cuantitativos del hemograma automatizado ni los morfológicos.

Palabras clave: células sanguíneas, EDTA K2, EDTA K3, parámetros hematológicos, hemograma automatizado.

Abstract. Introduction. EDTA is the anticoagulant of choice in hematology laboratories for the conservation of whole blood samples. There are two types, K2 EDTA and K3 EDTA, and their difference lies in the amount of potassium molecules. Some guidelines suggest that there are differences between K2 and K3 EDTA for the blood analysis process. However, with the new collection tubes offered by the commercial suppliers, it is not clear if in fact there is a difference between the two anticoagulants that would result in changes in blood parameters and cell morphology. **Objective.** To compare leukocyte counts, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume, platelets and cell morphology in peripheral blood samples collected with K2 EDTA and K3 EDTA, at different times (0, 1 and 2 hours). **Materials and methods.** A quasi-experimental, multivariate, multifactorial study was carried out, with anticoagulated blood as the unit of analysis, either with K2 EDTA or K3 EDTA, extracted from 53 subjects through a non-probabilistic sampling for convenience. **Results.** There was no statistically significant difference when comparing results of the peripheral blood smear and the quantitative hematological parameters using K2 or K3 EDTA. **Conclusion.** The use of either K2 EDTA or K3 EDTA as the anticoagulant of choice, when processing samples within a suitable time after their collection, proved equally satisfactory for both quantitative and morphological parameters.

Keywords: Blood cells, K2 EDTA, K3 EDTA, blood parameters, automated cell counter.

Introducción

El hemograma completo automatizado se define como la evaluación numérica y descriptiva de los elementos celulares de la sangre; glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas, por medio de la impedancia eléctrica o la utilización de un láser para brindar una información tanto cuantitativa como cualitativa de todos los componentes sanguíneos [1].

Los estudios hematológicos suministran información de gran utilidad acerca del estado de salud o enfermedad de un individuo, lo que los convierte en una de las pruebas más solicitadas en el laboratorio clínico, y acompañan casi todos los protocolos de diagnósti-

co. Además, con el avance tecnológico, el hemograma es la prueba de rutina que más ha evolucionado, no solo en el número de parámetros evaluados, sino en precisión, exactitud y rapidez [2]. Dada esta importancia, es determinante establecer controles de calidad en la fase preanalítica, en la cual se presentan el 75% de los errores del laboratorio clínico [3].

La Organización Internacional de Normalización (ISO) define error de laboratorio clínico como el fracaso de una acción planificada que no se cumple como estaba previsto, o el uso de un plan equivocado para la consecución de un propósito; esto puede ocurrir en cualquier parte de los procesos

del laboratorio, desde la solicitud del examen, hasta la emisión de los resultados [4]. Concretamente, en el hemograma se ha reportado que la mayoría de errores se presenta en la fase preanalítica, entre los que se encuentra el manejo del anticoagulante [5]. La proporción entre la muestra y el anticoagulante es de extrema importancia, debido a que si se extrae menos sangre de la requerida, la cantidad excesiva del aditivo afecta la exactitud de los resultados de la prueba. En el caso del tubo con ácido etilendiaminotetracético (EDTA) para hematología, es necesario el llenado del tubo hasta agotar el vacío. El EDTA es un ácido orgánico tetracarboxílico derivado del etano por aminación de sus dos grupos metilo, y posterior diacetilación de cada uno de los grupos amino. Gracias a su propiedad de quelar iones metálicos, el EDTA es muy eficaz para fijar Ca, Mg, Fe, Cu y Zn, iones que son necesarios para que se den múltiples reacciones enzimáticas, incluyendo la cascada de la coagulación [6]. Hay dos versiones del EDTA utilizado en hematología; el EDTA K2 (dipotásico) y el EDTA K3 (tripotásico), que se diferencian por la cantidad de moléculas de potasio [7]. Con el tiempo se han modificado las guías que se tienen sobre el uso del anticoagulante EDTA para el proceso del hemograma, debido a las nuevas presentaciones de los tubos y a la forma en que viene el EDTA en ellos, lo que tiene como consecuencia que se encuentren diferentes opiniones entre los profesionales, y no haya claridad sobre cuál es el tipo de EDTA adecuado para el proceso del hemograma, y si alguno de ellos causa efectos en la muestra que pueda alterar el resultado, tanto cuantitativamente como cualitativamente.

El propósito de la presente investigación es comparar los recuentos leucocitarios, la hemoglobina, el he-

matocrito, el volumen corpuscular medio (VCM), las plaquetas y la morfología celular del extendido de sangre periférica, en muestras con EDTA K2 y EDTA K3, en diferentes tiempos: 0, 1 y 2 horas desde el momento de la toma de la muestra.

Materiales y métodos

Es un estudio cuasi-experimental, multivariado, multifactorial, que tiene como unidad de análisis sangre anticoagulada con EDTA K2 y EDTA K3, extraída de 53 adultos participantes a través de un muestreo no probabilístico por conveniencia. Se recogieron 106 muestras de sangre periférica de forma simultánea; 2 tubos por paciente, uno con EDTA K2 y otro con EDTA K3. De cada tubo se hicieron 3 placas de extendido de sangre periférica en los diferentes tiempos (0, 1 y 2 horas), para un total de 6 extendidos por participante.

Como criterio de inclusión se consideró que fueran participantes mayores de edad y como criterio de exclusión se consideraron los extendidos de sangre periférica no aptos para la lectura (extendidos gruesos, hemolizados, coloración con precipitados, coloraciones ácidas o básicas), y los casos que por alguna razón no tuvieran la totalidad de los seis extendidos necesarios por participante. Los individuos voluntarios firmaron consentimiento informado.

Las variables cuantitativas continuas fueron el recuento de leucocitos, la hemoglobina, el hematocrito, el VCM y el recuento de plaquetas. La composición del EDTA se consideró como variable dicotómica nominal. Como variable cualitativa politómica nominal se consideró el extendido de sangre periférica, del cual se evaluó la morfología celular de cada uno de los componentes sanguíneos, de acuerdo con

las recomendaciones suministradas por el ICSH (del inglés, *International Committee of Standardization in Haematology*) para la estandarización de la nomenclatura y clasificación de las células sanguíneas periféricas [8]. Tanto para los eritrocitos como para las plaquetas, la morfología se estudió en 10 campos con un promedio de 100 a 120 eritrocitos por campo, lo que garantiza observar más de 1.000 eritrocitos y una buena distribución de plaquetas. Para los leucocitos, se revisó un total de 200 leucocitos por placa [8].

Para la validación de la morfología, esta fue revisada por dos investigadoras especialistas en hematología, más una evaluadora externa. Se tuvo en cuenta la guía del CLSI (del inglés, *Clinical and Laboratory Standards Institute*) H20A2 [9], que garantiza una lectura adecuada de los extendidos de sangre periférica.

Se utilizaron tubos para la extracción en vacío de la sangre total con EDTA K2 y EDTA K3 de marca Vacuette® (Nipro Medical Corporation Colombia, con registro sanitario R.S. 2007RD-0000594), fabricados con polietilentereftalato (PET), tapa de polietileno con tapón de goma de butil bromuro de caucho, anillo estabilizador de polipropileno y un gel de polímeros; cabe destacar que la presentación de los tubos era igual, y la única diferencia era la composición del EDTA K2 o K3 [10].

Como equipo analítico para la lectura automatizada del hemograma se trabajó con un ADVIA 2120i Hematology System, con tecnología de impedancia eléctrica, corriente directa y citometría de flujo. Las corridas analíticas se validaron frente al control de calidad interno (independiente) y con pruebas de evaluación externa de la calidad [11].

Se realizó análisis descriptivo del comportamiento de los principales parámetros cuantitativos (recuento de leucocitos y plaquetas, hemoglobina, hematocrito y VCM) en 106 muestras de 53 adultos voluntarios sanos y de programas de consulta externa, de los cuales 28 fueron mujeres y 25 hombres, con un rango de edad entre 20 y 30 años. Las muestras de sangre periférica fueron tomadas con anticoagulante EDTA K2 y EDTA K3, utilizando tablas de distribución de frecuencia que muestran el promedio, desviación estándar, valores mínimos y máximos por tipo de anticoagulante. Así mismo, se comprobaron los supuestos de homocedasticidad, normalidad e independencia para las mismas, con el fin de realizar el análisis de varianza ANOVA multifactorial, y determinar si había diferencias estadísticamente significativas entre los promedios de las variables de las muestras colectadas con los anticoagulantes EDTA K2 y EDTA K3, al inicio de la toma de la muestra (a las cero horas), una y dos horas. La comprobación de las hipótesis se hizo teniendo en cuenta un nivel de confianza de 95% y un nivel de significancia de $p < 0,05$.

Teniendo en cuenta que las muestras de sangre periférica con EDTA conservan la morfología celular por un periodo no mayor a las dos horas, se seleccionó la muestra tomada a las dos horas, con ambos anticoagulantes, para evaluar la morfología de las tres líneas celulares. Se aplicó la prueba de χ^2 de Pearson, utilizando los datos registrados por dos observadores que evaluaron el componente leucocitario, el eritroide y el plaquetario, y que desconocían si los extendidos de sangre periférica provenían de muestras tomadas con anticoagulante EDTA K2 o EDTA K3; además, se obtuvo la concordancia mediante el índice kappa entre los mismos.

Consideraciones éticas

Se tuvieron las consideraciones éticas que cita la resolución 8430 de 1993, la cual establece los principios de beneficencia, respeto a la dignidad humana y justicia, con lo que se garantiza a los individuos participantes su autonomía en la participación con el consentimiento informado, el uso de un código para garantizar su confidencialidad, la custodia de los datos por el investigador principal durante dos años, y que la investigación está haciendo un aporte a la comunidad científica.

Resultados

Con el fin de evidenciar si el tipo de anticoagulante, EDTA K2 o EDTA K3, generaba cambios significativos en los resultados cuantitativos y cualitativos en el hemograma, se aplicaron diferentes estadísticos. Para los análisis, se utilizó un nivel de significancia de 5% ($p=0,05$). En la **tabla 1** se observa que la variación entre las medias, desviación estándar, valor mínimo y máximo en los diferentes parámetros, en los tres tiempos estipulados de 0, 1 y 2 horas, posee un comportamiento similar entre los dos anticoagulantes estudiados, EDTA K2 o K3. Además, se observa que en la mayoría de los parámetros hemáticos, en los tres tiempos, el valor de significancia o valor p fue mayor a 0,5 en todas las variables (**tabla 2**).

Con respecto a la comparación de los cambios morfológicos en el extendido de sangre periférica de la serie leucocitaria, eritroide y plaquetaria, obtenidos con anticoagulante EDTA K2 y K3, en las muestras de 2 horas, se observó que el nivel de concordancia de los diferentes anticoagulantes fue mayor al 95% (**tabla 3**). En las casillas donde aparecen las palabras "no calculado",

corresponde a que no hubo datos suficientes para poder calcular los estadísticos, evitando así que se sesgara la prueba matemática por el número reducido de muestras. Además, se encontró una limitación en esta observación, y radica en que no se consideraron los hallazgos en el mismo paciente en cuanto a los microcitos ($p=0,02$), la hipergranularidad ($p=0,02$) y la presencia de vacuolas ($p=0,05$), para rechazar la hipótesis nula de independencia.

Discusión

El análisis de las variables cuantitativas y los valores observados, demostró que no hay diferencias estadísticamente significativas en los recuentos de leucocitos, hemoglobina, hematocrito y plaquetas cuando se utiliza EDTA K2 o K3, ni cuando se procesa la muestra inmediatamente a las cero horas, a la hora o a las dos horas de haberse colectado, o al combinar el tipo de anticoagulante y el tiempo de procesamiento.

En los hallazgos morfológicos se observó una concordancia superior a 95% con los resultados obtenidos con EDTA K2 y con K3. Se encontraron algunas alteraciones morfológicas inherentes a los participantes, como el adelgazamiento del puente cromatínico interlobular o hilos interlobulares; esta alteración está descrita en la literatura como cambios cromatínicos en los leucocitos debido a diferentes estados reactivos o displásicos [12]. En el estudio de la muestra de este participante en particular, se encontró que no era un cambio morfológico debido al tiempo de exposición ni al tipo de EDTA, ya que presentó la misma morfología en las 6 placas del extendido de sangre periférica. De igual forma, se observó un caso con basofilia citoplasmática en linfocitos (cambio morfológico que está

Tabla 1. Comparación de valores medios y variabilidad de los principales parámetros del hemograma con anticoagulante EDTA K2 y K3

Parámetro del hemograma	Media		Desviación estándar		Valor mínimo		Valor máximo	
	EDTA K2	EDTA K3	EDTA K2	EDTA K3	EDTA K2	EDTA K3	EDTA K2	EDTA K3
	Leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	6,86	6,94	2,12	2,15	3,17	3,34	12,88
Hemoglobina (g/dL)	13,43	13,39	1,94	1,93	9,20	9,20	16,60	16,50
Hematocrito (%)	39,03	38,67	5,39	5,48	25,90	25,70	47,80	47,90
VCM (fL)	86,10	84,68	5,05	5,28	73,0	72,3	101,8	99,3
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	272	274	99,01	99,12	48	51	553	545

Tabla 2. Análisis de varianza multifactorial con valores de significancia de los principales parámetros del hemograma con anticoagulante EDTA K2 y K3

Parámetro del hemograma	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Valor F	Anticoagulante (EDTA K2-K3) en tiempo (0, 1, 2 horas) (valor p)	Anticoagulante (EDTA K2-K3) (valor p)	Tiempo (0, 1, 2 horas) (valor p)
Leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	2	3.070,5	1.535,2	0,505	0,604	0,157	0,605
Hemoglobina (g/dL)	2	57,1	28,5	0,493	0,611	0,176	0,617
Hematocrito (%)	2	456,5	228,2	0,895	0,410	0,569	0,408
VCM (fL)	2	3.552,3	1.776,2	0,520	0,595	0,233	0,605
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	2	100,4	50,2	0,005	0,995	0,871	0,937

Tabla 3. Concordancia a través del índice kappa para los principales cambios morfológicos en la serie leucocitaria y eritroide con anticoagulante EDTA K2 y K3 en las muestras de 2 horas

Cambio morfológico	Índice kappa	Prueba exacta de Fisher (valor p)
Microcitosis	1	0,02
Hipocromía	0,98	No calculado
Cuerpos de Döhle	0,98	No calculado
Vacuolización de leucocitos	0,96	0,05
Hipergranularidad de leucocitos	1	0,02

demostrado como normal en menos de un 5% de los linfocitos, en pacientes sanos [13]), característica observada en las 6 placas estudiadas de las muestras del mismo paciente.

Estudios previos presentan opiniones diferentes frente a la utilización de ambos anticoagulantes; por ejemplo, Mehmood y colaboradores [14] encontraron diferencias significativas utilizando tubos de marca Improvacuter® con EDTA K2 y K3 en varios parámetros, a diferentes tiempos. Para ese estudio se utilizaron tubos de plástico con EDTA K2 y tubos de vidrio con EDTA K3, lo cual podría explicar la diferencia en los resultados. Romero y colaboradores [15] consideran el uso del EDTA K2 como anticoagulante de elección con base en las recomendaciones del ICSH, donde se establece que el EDTA K2 conserva la morfología sanguínea, además de inhibir la aglutinación de las plaquetas, y así facilitar su recuento; sin embargo, no se hacen indicaciones sobre el uso del EDTA K3. Así mismo, Gari y colaboradores [16] describieron que las diferencias entre los resultados obtenidos con los tubos de vidrio con EDTA K3 frente a los tubos de plástico con EDTA K2 son mínimas, y que es poco probable que tengan importancia clínica; es de resaltar que han cambiado las condiciones y que actualmente los

tubos K2 y los tubos K3 son del mismo material plástico. Finalmente, Wiwanitkit y colaboradores [17] concluyeron que hay variaciones en los resultados del VCM, y que las muestras con EDTA K3 presentan valores más bajos, comparados con los de las muestras con EDTA K2. Sobre este estudio se resalta que los resultados emitidos pueden haberse visto alterados, ya que las comparaciones fueron realizadas hasta las 24 horas después de la toma de la muestra, tiempo en el que no se garantiza la calidad de los recuentos ni de la morfología celular con ninguno de los dos tipos de EDTA. Los autores concluyeron que se deben hacer estudios experimentales para comprobar estos hallazgos.

Estos antecedentes de investigación no son extrapolables al presente estudio, dado que los experimentos anteriores se realizaron bajo diferentes condiciones, como fueron el uso del material del tubo en polipropileno o vidrio, la matriz del anticoagulante en aerosol o liofilizado, la proporción entre sangre total y anticoagulante, y el tiempo de procesamiento de las muestras; lo que genera cambios en los resultados de los parámetros hemáticos. Lo anterior nos motivó a realizar un estudio donde las discrepancias fueran atribuidas al componente del anticoagulante, y no a factores externos como los antes descritos.

Según las guías del CLSI de 2003, específicamente en la H01-A5 sobre tubos y aditivos para la recolección de sangre venosa, se refirieron al EDTA como el anticoagulante de elección para realizar el hemograma, y se especificó la composición del EDTA K2 y K3. Sin embargo, como en ese momento el EDTA K3 era de presentación líquida, consideraron que era mejor el K2 porque no hace dilución de la muestra [18]. En 2008, en la guía CLSI GP42-A6 [19] sobre los procedimientos y mecanismos para la recolección de muestra sanguínea capilar, se mencionó en la sección de aditivos, que el EDTA K2 es recomendado para el uso en hematología, garantizando estabilidad de resultados entre 2 y 12 horas; sin embargo, no se hizo recomendación o advertencia sobre el uso del EDTA K3. Para esta fecha, comercialmente, ya se ofrecían con las mismas características los dos tipos de EDTA. La guía H01-A5, actualizada en 2010 y ahora conocida como GP39-A6 [20], no hace recomendación o advertencia respecto al uso de EDTA K2 o K3, y solo manifiesta la necesidad de efectuar procedimientos de validación de métodos e intervalos biológicos de referencia, cuando se utilice un anticoagulante en presentación líquida. Igualmente, en el mismo año, en la guía GP34-A [21], se menciona que el EDTA hace interferencia en algunas pruebas de química sanguínea, y que es el ideal para la evaluación del hemograma, sin diferenciar entre K2 o K3.

Conclusiones

El presente estudio tuvo la finalidad de comparar ambos tipos de anticoagulantes en nuestro medio, teniendo en cuenta que tanto el EDTA K2 como el EDTA K3 se encuentran disponibles en el mismo tipo de tubos de polietilen-

tereftalato, lo que permitió hacer una comparación entre ambos anticoagulantes con mayor validez.

Se evidenció que el uso del EDTA K2 o EDTA K3 como anticoagulante de elección, procesando las muestras en un tiempo adecuado después de su recolección, no afecta los principales parámetros cuantitativos evaluados en este estudio, en un equipo automatizado, de las diferentes líneas hematopoyéticas; además, no se observaron cambios en la morfología eritrocitaria, leucocitaria ni plaquetaria de importancia clínica significativa entre los diferentes tiempos después de la toma de muestra, dentro de un mismo tipo de EDTA, ni entre los dos tipos de EDTA K2 y K3.

Los resultados de este trabajo, apoyados en el hecho de que las guías del CLSI indican que para hematología el anticoagulante de elección es el EDTA, sin diferenciar en su contenido de potasio, demostraron que efectivamente no hay diferencias estadísticamente significativas tanto en lo cuantitativo como en lo cualitativo entre el uso de los dos anticoagulantes, y se concluye que bajo condiciones controladas en la fase preanalítica y analítica, se puede usar el anticoagulante EDTA K2 y el EDTA K3 indistintamente.

Referencias

1. **Palma G.** Hemograma electrónico (automatizado) "Su evaluación". Rosario, Argentina: Laboratorio Central Hospital Italiano-IBC; 2013. Acceso 18 de junio de 2013. Disponible en <http://www.ibcrosario.com.ar/articulos/HemogramaElectronicoSuEvaluacion.html>.
2. **Berrío-Calle M, Correa-Correa MC, Jiménez-Fernández ME.** El hemograma: análisis e interpretación con las tres generaciones. Medellín; Universidad de Antioquia. 2003. p. 183.

3. **Quiroz-Arias C.** Errores preanalíticos en el laboratorio clínico de un hospital de tercer nivel: prueba piloto. *Salud Uninorte* 2010;26:189-200.
4. **ISO/TS 22367.** Medical Laboratories: Reduction of error through risk management and continual improvement. Geneva, Switzerland: The International Organization for Standardization 2008. p. 10. 2016. Acceso 20 de abril de 2018. Disponible en <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:ts:22367:ed-1:v1:en>.
5. **Martínez-Llamas MS, López-Barba J, Hijaño-Villegas S, Orgaz-Morales T, Díaz-Portillo J.** Actualización de la fase preanalítica de los laboratorios clínicos del hospital "Cruz Roja" del INGESA de Ceuta. Madrid: Instituto Nacional de Gestión Sanitaria 2007. p. 65. Acceso 11 de abril de 2018. Disponible en <http://www.ingesa.mscbs.gob.es/estadEstudios/documPublica/pdf/actualzFasePreanalitica.pdf>.
6. **Segura-Egea JJ, Jiménez-Rubio Manzanares A, Llamas-Cadaval R, Jiménez-Planas A.** El ácido etilén diamino tetraacético (EDTA) y su uso en endodoncia. *Endodoncia* 1997;15:90-97.
7. **Morán-Villatoro L.** Obtención de muestras sanguíneas de calidad analítica : mejoría continua de la etapa preanalítica. Chiapas, México; Editorial Médica Panamericana. 2001. p. 184.
8. **Palmer L, Briggs C, McFadden S, Zini G, Burthem J, Rozenberg G, et al.** ICSH recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphological features. *Int J Lab Hematol* 2015;37:287-303. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12327>.
9. **Koepke J, Van Assendelft O, Brindza L, Davis B, Fernández B, Gewirtz A.** Reference leukocyte (WBC) differential count (proportional) and evaluation of instrumental methods; approved standard. CLSI document H20-A2. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014. 2nd ed. p.11-16. Acceso 17 de junio de 2018. Disponible en https://clsi.org/media/1400/h20a2_sample.pdf.
10. **Nipro Medical Corporation.** Productos división laboratorio. Tubos Vacuette. Bogotá, Colombia: NIPRO; 2017. p. 42. Acceso 13 de mayo de 2018. Disponible en <https://disproquilab.com/wp-content/uploads/2018/06/CATALOGO-GNRAL-NIPRO.pdf>.
11. **Siemens Healthineers.** ADVIA 2120i Hematology System with Autoslide. Technical specifications. Erlangen, Germany: Siemens Healthineers. p. 53. Acceso 02 de junio de 2018. Disponible en <https://www.siemens-healthineers.com/hematology/systems/advia-2120-hematology-system-with-autoslide>.
12. **Foucar K, Chabot-Richards D, Czuchlewski D, Hunt-Karner K, Reichard KK, Vasef MA, et al.** Diagnostic pathology: blood and bone marrow. New Mexico; Elsevier. 2017. p. 976.
13. **Retamales-Castelletto E.** Recomendaciones para la interpretación del hemograma: serie blanca, roja y plaquetaria. Santiago de Chile: Instituto de Salud Pública, Ministerio de Salud; 2015. p. 24. Acceso 03 de abril de 2018. Disponible en <https://interlab.mx/pdf/interes/inter-hemograma.pdf>.
14. **Mehmood R, Muhammed RK, Hussain S, Sana A.** Evaluation of di-potassium and tri-potassium EDTA evacuated tubes for routine haematological testing. *J Clin Lab Anal* 2018;32:e22188. <https://doi.org/10.1002/jcla.22188>.
15. **Romero A, Perea JM, González J, Tronchoni J.** Utilización de tubos para recuento hematológico de polipropileno con EDTA 2K como anticoagulante en un servicio de hematología. *Enferm Clin* 2001;11:18-22. [https://doi.org/10.1016/S1130-8621\(01\)73683-2](https://doi.org/10.1016/S1130-8621(01)73683-2).
16. **Gari MA.** The comparison of glass EDTA versus plastic EDTA blood-drawing tubes for complete blood count. *Middle-East J Sci Res* 2008;3:32-35.
17. **Wiwanitkit V.** Effect of EDTA K2 and K3 anticoagulants on the complete blood count measured by hematological analyzer. *Arch Hell Med* 2011;28:131-132.
18. **Arkin C, Ernst D, Marlar A, Parish G, Szamosi D, Wiseman J.** Tubes and additives for venous blood specimen collection; approved standard. CLSI document H01-A5. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2003. 5th ed. p.11-16. Acceso 14 de mayo de 2018. Disponible en <http://demo.nextlab.ir/getattachment/aa8e592f-ed2b-459f-a9a8-1e8c-694de812/CLSI-H1-A5.aspx>.
19. **Ernst DJ, Ballance LO, Calam RR, McCall R, Szamosi DI, Tyndall L.** Procedures and devices for the collection of diagnostic capillary

blood specimens; approved standard. CLSI document GP42-A6. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008. 6th ed. p. 25. Acceso 15 de mayo de 2018. Disponible en https://clsi.org/media/1371/gp42a6_sample.pdf.

20. Dubrowný N, Armstrong E, Berube J, Bowen R, Chan Y, Hesselgesser D, et al. Tubes and additives for venous and capillary blood specimen collection; approved standard. CLSI document GP39-A6. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.

6th ed. 17 p. Acceso 15 de mayo de 2018. Disponible en https://clsi.org/media/1374/gp39a6_sample.pdf.

21. Dubrowný N, Armstrong E, Berube J, Bowen R, Chan YW, Hesselgesser D, et al. Validation and verification of tubes for venous and capillary blood specimen collection; approved guideline. CLSI document GP34-A. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010. 44 p. Acceso 16 de mayo de 2018. Disponible en https://clsi.org/media/1376/gp34a_sample.pdf.