



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

Pruebas de laboratorio en la valoración de la hemostasia primaria

**Trabajo de Titulación para optar al título de Licenciado en
Laboratorio Clínico**

Autores:

Allaica Agualsaca, Rocío Margarita
Hurtado Ramirez, Silvia Alexandra

Tutora:

Mgs. Aida Mercedes Balladares Saltos

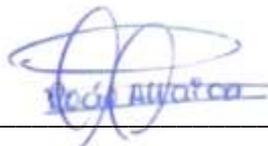
Riobamba, Ecuador. 2024

DECLARATORIA DE AUTORÍA

Nosotras, Rocío Margarita Allaica Agualsaca, con cédula de identidad 0650122120 y Silvia Alexandra Hurtado Ramirez, con cédula de identidad 0250184611 autoras del trabajo de investigación titulado: Pruebas de laboratorio en la valoración de la hemostasia primaria, certifico que la producción, ideas, opiniones, criterios, contenidos y conclusiones expuestas son de nuestra exclusiva responsabilidad.

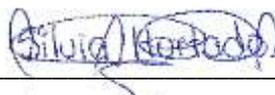
Asimismo, cedemos a la Universidad Nacional de Chimborazo, en forma no exclusiva, los derechos para su uso, comunicación pública, distribución, divulgación y/o reproducción total o parcial, por medio físico o digital; en esta cesión se entiende que el cesionario no podrá obtener beneficios económicos. La posible reclamación de terceros respecto de los derechos de autoras de la obra referida, será de mi entera responsabilidad; librando a la Universidad Nacional de Chimborazo de posibles obligaciones.

En Riobamba, 15 de abril de 2024.



Rocío Margarita Allaica Agualsaca

C.I: 0650122120



Silvia Alexandra Hurtado Ramirez

C.I: 0250184611

DICTAMEN FAVORABLE DEL PROFESOR TUTOR

Quien suscribe, Mgs. Aida Mercedes Balladares Saltos catedrático adscrito a la Facultad de Ciencias de la Salud por medio del presente documento certifico haber asesorado y revisado el desarrollo del trabajo de investigación titulado: Pruebas de laboratorio para la valoración de la hemostasia primaria, bajo la autoría de Rocío Margarita Allaica Agualsaca; por lo que se autoriza ejecutar los trámites legales para su sustentación.

Es todo cuanto informar en honor a la verdad; en Riobamba, a los 18 días del mes de marzo de 2024.



Mgs. Aida Mercedes Balladares Saltos

C.I: 1801949908

DICTAMEN FAVORABLE DEL PROFESOR TUTOR

Quien suscribe, Mgs. Aida Mercedes Balladares Saltos catedrática adscrito a la Facultad de Ciencias de la Salud por medio del presente documento, certifico haber asesorado y revisado el desarrollo del trabajo de investigación titulado: Pruebas de laboratorio para la valoración de la hemostasia primaria, bajo la autoría de Silvia Alexandra Hurtado Ramirez; por lo que se autoriza ejecutar los trámites legales para su sustentación.

Es todo cuanto informar en honor a la verdad; en Riobamba, a los 18 días del mes de marzo de 2024.



Mgs. Aida Mercedes Balladares Saltos

C.I: 1801949908

CERTIFICADO DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

Quienes suscribimos, catedráticos designados Miembros del Tribunal de Grado para la evaluación del trabajo de investigación Pruebas de laboratorio para la valoración de la hemostasia primaria, presentado por Rocío Margarita Allaica Agualsaca, con cédula de identidad número 0650122120 y Silvia Alexandra Hurtado Ramirez, con cédula de identidad número 0250184611, bajo la tutoría de la Mgs. Aida Mercedes Balladares Saltos; certificamos que recomendamos la APROBACIÓN de este con fines de titulación. Previamente se ha evaluado el trabajo de investigación y escuchada la sustentación por parte de sus autoras; no teniendo más nada que observar.

De conformidad a la normativa aplicable firmamos, en Riobamba a los 23 días de abril del 2024.

Mgs. Ximena Del Rocío Robalino Flores.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE GRADO



Mgs. Eliana Elizabeth Martínez Durán.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO



Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO





CERTIFICACIÓN

Que, **ALLAICA AGUALSACA ROCIO MARGARITA** con CC: **0650122120**, estudiante de la Carrera **LABORATORIO CLÍNICO**, Facultad de **CIENCIAS DE LA SALUD**; ha trabajado bajo mi tutoría el trabajo de investigación titulado " **PRUEBAS DE LABORATORIO EN LA VALORACIÓN DE LA HEMOSTASIA PRIMARIA**", cumple con el 7%, de acuerdo al reporte del sistema Anti plagio **TURNITIN**, porcentaje aceptado de acuerdo a la reglamentación institucional, por consiguiente, autorizo continuar con el proceso.

Riobamba, 28 de marzo de 2024

Mgs. Aida Mercedes Balladares Saltos

TUTORA



CERTIFICACIÓN

Que, **HURTADO RAMIREZ SILVIA ALEXANDRA** con CC: **0250184611**, estudiante de la Carrera **LABORATORIO CLÍNICO**, Facultad de **CIENCIAS DE LA SALUD**; ha trabajado bajo mi tutoría el trabajo de investigación titulado " **PRUEBAS DE LABORATORIO EN LA VALORACIÓN DE LA HEMOSTASIA PRIMARIA**", cumple con el 7%, de acuerdo al reporte del sistema Anti plagio **TURNITIN**, porcentaje aceptado de acuerdo a la reglamentación institucional, por consiguiente, autorizo continuar con el proceso.

Riobamba, 28 de marzo de 2024

Mgs. Aida Mercedes Balladares Saltos

TUTORA

DEDICATORIA

Dedico el presente trabajo de investigación principalmente a Dios por estar presente cuando lo necesito, a mis padres por su esfuerzo diario y apoyarme, a mi abuela paterna por ser mi fortaleza, ejemplo de lucha y buenos valores. A mi hermana por ser fuerte, valiente y estar siempre presente, a mi hermano pequeño por ser lo más bonito de mi vida. Para mi tía Silvia, por protegernos, cuidarnos y sobre todo estar presente en los momentos más difíciles. Y para mi mejor amiga Paty.

Allaica Agualsaca Rocío Margarita

El presente trabajo va dedicado a Dios que, bajo su bendición, me ha guiado a lograr con el objetivo propuesto.

A mis Padres Miguel y Hortensia por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años gracias a su esfuerzo he logrado llegar hasta aquí y cumplir un sueño tan anhelado, gracias, por tanto.

A mis hermanos Luis, Edison y Andrea por ser mi apoyo moral, y por siempre estar presentes en cada etapa de mi vida.

A mi sobrina Arianna por ser el motivo de mis alegrías, esto es por y para ustedes.

Hurtado Ramirez Silvia Alexandra

AGRADECIMIENTO

Agradezco primero a Dios por la salud y la vida de mi familia y la mía. A la Universidad Nacional de Chimborazo por ser fuente de conocimientos y desarrollo personal y profesional. Agradezco a mis docentes de la carrera de Laboratorio Clínico, por impartirnos sus conocimientos y consejos, de manera especial, a la Mgs. Mercedes Balladares Saltos, tutora de la presente investigación. Agradezco a mis abuelos; Ana, Hipólito, Juana, Miguel y a mis tíos; Manuel, Ana, Mónica y Piedad, por siempre estar presentes.

Allaica Agualsaca Rocío Margarita

Agradezco a Dios por todas las bendiciones derramadas para no darme por vencida.

Mi sincero agradecimiento a la Universidad Nacional de Chimborazo y a la Carrera de Laboratorio Clínico por haberme brindado la oportunidad de alcanzar una formación integral y a cada uno de los docentes por su esmero y dedicación con cada una de sus enseñanzas en el día a día.

A la Mgs. Mercedes Balladares Saltos por la ayuda brindada durante el proceso.

A mis padres por el apoyo brindado durante toda mi carrera universitaria y a todas aquellas personas que aportaron para el desarrollo y consecución del presente trabajo.

Hurtado Ramirez Silvia Alexandra

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

RESUMEN

ABSTRACT

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	14
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	19
Hemostasia	19
Hemostasia primaria	19
Protagonistas claves de la hemostasia primaria	19
Pared vascular:	19
El factor Von Willebrand: Se menciona como una.....	19
Plaquetas	20
Fisiología de la hemostasia primaria	20
Iniciación: Establece un conjunto de cambios morfológicos, permitiendo	20
Extensión:	20
Perpetuación:.....	21
Pruebas de laboratorio	21
Conteo plaquetario y morfología de las plaquetas	21
Tiempo de sangría	23
Prueba de resistencia o fragilidad capilar (prueba de Rumpel-Leede).....	24
Prueba de retracción del coágulo (método de MacFarlane).....	25
Actividad del cofactor de ristocetina (FVW:RCo).....	26
Recuento de plaquetas por el método de impedancia.....	26
Analizador de la función plaquetaria o PFA-100.....	27
Agregación plaquetaria.....	28
Alteraciones Plaquetarias.....	29

Trombocitopenias hereditarias	29
Trombocitopatías hereditarias	30
Enfermedad de Von Willebrand.....	31
Trombocitopenias y trombocitopatías adquiridas	31
Trombocitopenia inmune primaria.....	32
Trombocitopenias complejas	32
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA	34
Enfoque de la investigación.	34
Tipo de Investigación.....	34
Métodos y procedimientos	36
Técnicas y materiales.....	36
Consideraciones éticas.....	36
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES	52
BIBLIOGRAFÍA	54
ANEXOS.....	61

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición del reactivo de dilución y técnica de Brecker Cronkite	21
Tabla 2. Composición del reactivo de dilución y técnica de Rees Ecker.....	22
Tabla 3. Métodos y técnicas utilizados en el diagnóstico de trastornos de la hemostasia primaria.	38
Tabla 4. Causas que producen alteraciones cuantitativas y funcionales de las plaquetas..	43
Tabla 5. Resultados de laboratorio en patologías más frecuentes de la hemostasia primaria.	47

RESUMEN

La hemostasia es un proceso fisiológico que se produce en 2 fases, la primaria y secundaria, en la primera se forma el tapón plaquetario que empieza segundos después de la lesión del vaso; el objetivo de la investigación fue especificar las diferentes pruebas de laboratorio en la valoración la hemostasia primaria, así como también las causas que producen las alteraciones, cuantitativas y funcionales de las plaquetas. El presente trabajo tuvo un enfoque cualitativo, de tipo descriptivo, con un diseño documental, no experimental, de cohorte transversal y de tipo retrospectivo. La información fue extraída de diferentes bases científicas como: Elsevier, Google académico, Medigraphic, Scielo, Science Direct y PubMed, con una población conformada por 65 artículos científicos, en el que se aplicó criterios de inclusión y exclusión, obteniendo una muestra de 30. En la investigación se evidenció que las diferentes pruebas utilizadas en el diagnóstico de trastornos de la hemostasia primaria se basan en métodos y técnicas convencionales manuales y automatizadas, como el recuento de plaquetas, morfología plaquetaria, tiempo de sangría, retracción del coágulo, prueba de resistencia o fragilidad capilar y actividad del cofactor de ristocetina y técnicas más avanzadas, como el analizador de la función plaquetaria o PFA y la agregación plaquetaria. También se demostró que las causas de las trombocitopenias y trombocitopatías son de origen hereditario o adquirido durante su vida. En conclusión, las mencionadas pruebas evalúan la funcionalidad de las plaquetas, factor Von Willebrand y la pared vascular, siendo estas fundamentales para la valoración de las coagulopatías.

Palabras claves: Hemostasia primaria, plaquetas, factor Von Willebrand, pared vascular, pruebas de laboratorio.

ABSTRACT

Hemostasis is a physiological process that occurs in two phases, primary and secondary. In the first one, the platelet plug is formed, which begins seconds after the vessel injury; the objective of the research was to specify the different laboratory tests in the assessment of primary hemostasis, as well as the causes that produce the quantitative and functional alterations of the platelets. The present work had a qualitative, descriptive approach, with a documentary, non-experimental, cross-sectional cohort, and retrospective design. The information was extracted from different scientific databases such as: Elsevier, Google academic, Medigraphic, Scielo, Science Direct and PubMed, with a population of 65 scientific articles, in which inclusion and exclusion criteria were applied, obtaining a sample of 30. The research showed that the different tests used in the diagnosis of primary hemostasis disorders are based on conventional manual and automated methods and techniques, such as platelet count, platelet morphology, bleeding time, clot retraction, capillary resistance or fragility test, and ristocetin cofactor activity, and more advanced techniques, such as platelet function analyzer or PFA and platelet aggregation. It was also demonstrated that the causes of thrombocytopenias and thrombocytopathies are of hereditary origin, such as Bernard-Soulier syndrome, or acquired during their lifetime, such as immune thrombocytopenic purpura. In conclusion, the mentioned tests evaluate the functionality of platelets, Von Willebrand factor and the vascular wall, being these fundamental for the evaluation of coagulopathies.

Keywords: Primary hemostasis, platelets, Von Willebrand factor, vascular wall, laboratory tests.



Edited by:

Mgs. Kerly Cabezas
ENGLISH PROFESSOR
C.C 0604042382

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

La hemostasia primaria tiene como finalidad la formación del trombo blanco con la intervención de los trombocitos, pared vascular y proteínas plasmáticas como factor de Von Willebrand (FVW) y fibrinógeno. Las plaquetas son partes citoplasmáticas sin núcleo que provienen de la segmentación de precursores medulares denominados megacariocitos¹.

Posteriormente a la lesión del endotelio el colágeno es expuesto, los trombocitos se activan y se fijan a ella, a través de la glicoproteína VI y FVW, mediante la glucoproteína Ib/IX/V en su membrana. De igual modo se desgranulan, liberando agonistas plaquetarios, activando así a otros trombocitos. Los cuales se agregan unos con otros, mediante la unión de las glucoproteínas IIb/IIIa, con cooperación del fibrinógeno, de esta manera se forma el trombo plaquetario².

Según la Federación Mundial de Hemofilia desde el año 1999 hasta el 2020 se presentaron un total de 393.658 pacientes identificados con desórdenes de la coagulación en todas las regiones del mundo, de los cuales 241.535 con hemofilia A o B y de tipo desconocido, 87.729 con enfermedad de Von Willebrand (EVW) y 64.394 con varios trastornos hemostáticos³.

La EVW es un trastorno hemorrágico ordinario en los individuos, se extiende por todo el mundo. Esta enfermedad se distingue por sangrados en la piel y en las membranas mucosas, perjudica principalmente al proceso inicial de la hemostasia en la interacción de las plaquetas, factor de Von Willebrand y endotelio vascular. La incidencia a escala global oscila de 1 en 100 y 1 en 10.000 personas^{4,5}.

Presenta una prevalencia de un 1 % de la población en general. Se calculan 620.000 pacientes que presentan síntomas a nivel mundial, de esta cifra cerca del 80 % residen en estados en vías de progreso. En los Estados Unidos, alrededor de 125 personas por cada millón de individuos manifiestan EVW con manifestaciones clínicas. En una investigación realizada en Italia anunciaron una prevalencia del 0,9 %, cerca de 8,2 casos por 1000 residentes⁶.

Se distinguen 3 variedades fundamentales de EVW. De los individuos diagnosticados, el tipo 1 presentan el 70 al 80 %, el tipo 2 presenta el 5 al 15 % y el tipo 3 presentan menos del 5%. La frecuencia de este último es de 1-5 por cada millón de residentes en Europa, mientras que en Suecia e Israel de 3 por millón. En Chile presentan una prevalencia del 2,71 y en Venezuela del 1,75 por millón de individuos⁶.

Otro trastorno de la primera etapa de la hemostasia es la trombocitopenia inmune que se observa en individuos de todas las etnias y razas. La incidencia en la población adulta en los Estados Unidos se calcula alrededor del 3,3 por 100.000 al año. La prevalencia de este trastorno es de 9,5 por cada 100.000 habitantes. En una investigación donde se analizó datos de la Comisión de Atención Médica de Maryland, se determinó que la prevalencia de la trombocitopenia inmune fue de 9,5 por 100.000 niños con una edad de 1 a 5 años; en niños de 6 a 10 años fue de 7,3 por 100.000 y en niños de 11 a 12 años fue de 4,1 por 100.000⁷.

La trombostenia de Glanzmann se distingue por una herencia autosómica recesiva que se encuentra presente a escala mundial, principalmente predomina en Asia, donde la endogamia es común. Se desconoce la prevalencia e incidencia exacta, en términos de distribución global, se han notificado aproximadamente 100 neonatos con este trastorno, presenta alta incidencia en la población judía-iraquí, en Jordania, Israel, Italia y Arabia Saudita⁸.

El síndrome de Bernard-Soulier se clasifica como el séptimo trastorno hemorrágico más habitual que se hereda cuando los progenitores transmiten un gen defectuoso en un par de cromosomas autosómicos y se presenta en su forma recesiva. Se han informado que ocurre en casi exclusivamente en hijos de padres consanguíneos; en la parte norte del continente americano, Japón y en el continente europeo, presenta una prevalencia en menos de 1 por 1,000.000. La incidencia de este síndrome puede ocurrir en más de 1 por 1,000.000 debido a que a menudo se diagnostica erróneamente cuando el paciente no manifiesta hallazgos clínicos comunes o cuando los resultados de laboratorio no son concluyentes⁹.

En Ecuador, de acuerdo con los datos recopilados por Programa Nacional de Sangre hasta diciembre de 2019 se registraron 814 pacientes, 116 poseen enfermedad de Von Willebrand, 599 presentan hemofilia A, 78 presentan hemofilia B y 21 pacientes han desarrollado inhibidores, los mismos que son asistidos en 17 hospitales ubicados en diversas provincias;

Santo Domingo, Tungurahua, Imbabura, Pastaza, El Oro, Bolívar, Esmeraldas, Santa Elena, Pichincha, Azuay, Guayas, Loja y Manabí¹⁰.

En una investigación realizada en el Hospital Alfredo Noboa Montenegro que tiene como tema “Prevalencia de la hemofilia en la provincia Bolívar”, se determinó que del 100% de los pacientes estudiados, el 10% tienen enfermedad de Von Willebrand y el 90% tienen hemofilia A¹¹.

En Chimborazo, Becerra J en su investigación titulada “Caracterización clínica y de laboratorio en la enfermedad de Von Willebrand”, determinó que las manifestaciones clínicas de la EVW se identifican por sangrados mucocutáneos de intensidad variable, en otras palabras, alterna periodos hemorrágicos con periodos asintomáticos, esto complica el diagnóstico de la enfermedad, generalmente la severidad de la hemorragia se asocia con el nivel de disminución del factor de Von Willebrand, sin embargo, no está correlacionada con la magnitud del tiempo de sangrado ni con su presencia¹².

En la investigación realizada por Becerra J se estableció que las concentraciones del factor de Von Willebrand se halla reducidas en un 25% en personas con grupo sanguíneo O en comparación con los otros grupos, siendo esta la característica clínica más importante; además para un diagnóstico definitivo se requiere concentraciones reducidas de este factor en sangre, en más de una vez, con antecedentes de sangrado e historia familiar positivo¹².

A través de este trabajo, se pretende especificar las pruebas de laboratorio empleadas con el fin de diagnosticar trastornos de la hemostasia primaria como son las anomalías plaquetarias y vasculares, ya sea de origen constitucional o adquirido.

En el Capítulo I de la investigación se encuentra los antecedentes, planteamiento del problema, justificación y los objetivos que se buscan alcanzar con la búsqueda bibliográfica con relación a las pruebas de laboratorio en la valoración de la hemostasia primaria y las causas de las alteraciones plaquetarias.

En el Capítulo II se describe todo lo referente al marco teórico; hemostasia, hemostasia primaria, protagonistas claves de la hemostasia primaria como la pared vascular, el factor de

Von Willebrand y las plaquetas, fisiología de la hemostasia primaria, pruebas de laboratorio que valoran la hemostasia primaria y las alteraciones plaquetarias.

En el capítulo III se detalla la metodología del trabajo de investigación en el cual se describe el enfoque, nivel, diseño, secuencia temporal, cronología de los hechos, población, muestra, criterios de inclusión y exclusión. El capítulo IV contiene los resultados y discusión. En el capítulo V se describe las conclusiones.

Es importante señalar que la hemostasia primaria es un proceso fisiológico normal y forma parte del mecanismo hemostático del cuerpo cuando se lesionan los vasos circulatorios, por lo tanto, se vincula con la formación de un tapón plaquetario. Las alteraciones de esta se manifiestan como un defecto en la cantidad o capacidad de las plaquetas que puede provocar un sangrado excesivo o prolongado tras una lesión que puede considerarse una enfermedad o patología. Por ejemplo, estas afecciones incluyen una trombocitopenia y trastornos plaquetarios hereditarios¹³.

Debido a la presencia de estas patologías en la hemostasia primaria, pueden presentarse los cambios hemostáticos iniciales que tienen las siguientes características; la tendencia al sangrado de forma espontánea o aparece inmediatamente si hubo un trauma previo, suele manifestarse como: hematomas, petequias, un sangrado prolongado por cortes, fatiga, cefalea, agrandamiento del bazo¹. Según American Cancer Society estos signos y síntomas se presentan por un recuento bajo de las plaquetas de acuerdo con los rangos normales¹⁴.

¿Es necesario distinguir las diferentes pruebas de laboratorio en la valoración de la hemostasia primaria?

La presente investigación tiene una magnitud importante debido a la exploración de primera línea, la cual está limitado a un sin número de exámenes. Si se solicita una prueba de coagulación se excluyen sistemáticamente las coagulopatías, el estudio inicial puede revelar inicialmente una trombocitopenia o EVW, que requiere un estudio especial, o puede indicar trombocitopatías¹⁵.

La hemostasia primaria puede verse afectada por una variedad de alteraciones en las plaquetas, las cuales cumplen con un mecanismo importante de defensa del cuerpo contra

las hemorragias, las alteraciones pueden ser congénitas (desde el nacimiento) y adquiridas (a lo largo de la vida), los trastornos más frecuentes que se pueden presentar son; trombocitopenia y la enfermedad de von Willebrand¹⁵.

El presente trabajo contiene una extensa investigación sobre las diferentes pruebas que valoran la hemostasia primaria; será de gran aporte a la sociedad beneficiando a individuos de ambos sexos de cualquier rango de edad que presentan trastornos de la hemostasia primaria como anomalías plaquetarias y vasculares, de origen congénito o adquirido.

El objetivo de la presente investigación fue especificar las diferentes pruebas de laboratorio en la valoración de la hemostasia primaria, la cual estuvo planteada por los siguientes objetivos específicos:

- Analizar los métodos y técnicas utilizados en el diagnóstico de trastornos de la hemostasia primaria.
- Distinguir las causas que producen alteraciones cuantitativas y funcionales de las plaquetas.
- Interpretar los resultados de laboratorio que se presentan en patologías más frecuentes de la hemostasia primaria.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

Hemostasia

Se presenta como un mecanismo fundamental de protección necesario del cuerpo, para preservar la integridad del revestimiento vascular evitando la pérdida de sangre en el momento en que los vasos sanguíneos se lesionan, restablece la circulación sanguínea una vez que se ha reparado la lesión. Estas se dividen para su estudio en hemostasia primaria, secundaria o fase plasmática de la coagulación y fibrinólisis¹⁶.

Hemostasia primaria

Aborda sobre el desarrollo de la formación del trombo blanco que empieza segundos después de la lesión cuando interactúan los trombocitos y la pared vascular, bloqueando el flujo sanguíneo hacia los capilares, arteriolas y venas. Los trombocitos que habitualmente recorren en forma inactiva se fijan a la pared del vaso lesionado, liberando el contenido de sus gránulos e interactúan con otras plaquetas para formar la base del tapón hemostático primario. Existen varios procesos que ocurren en el transcurso de la lesión vascular y que permite la creación de un tapón plaquetario^{13,17}.

Protagonistas claves de la hemostasia primaria

Pared vascular: Se encuentra en contacto con la sangre a través del endotelio, este está compuesto por una capa única de células de revestimiento endotelial, mientras que el subendotelio está compuesto de tejido conectivo y células de músculo liso; es rico en colágeno y factor de Von Willebrand. El endotelio es tromborresistente cuando está expuesto a la sangre, debido a que genera diversas moléculas que impiden la activación de trombocitos, regula de forma negativa la coagulación o tiene acción profibrinolítica^{18,19}.

El factor Von Willebrand: Se menciona como una glicoproteína sintetizada por células endoteliales y megacariocitos. Se presenta en la sangre de forma multimérica, facilita la unión y agregación de las plaquetas en los pequeños vasos sanguíneos en un entorno de alto flujo de sangre^{18,19}.

Plaquetas: Son fragmentos citoplasmáticos anucleadas de 1-3 μm de diámetro, tienen la forma de disco biconvexo. La trombopoyesis es la formación de nuevos trombocitos dura aproximadamente 7 días, se lleva a cabo en la médula ósea y la hormona trombopoyetina es responsable de su regulación. Se distinguen 4 estadios progresivos, megacarioblastos; elemento inmaduro, promegacariocito, megacariocito granular, y el megacariocito liberador de plaquetas; el tiempo de vida de estas es menor de 12 días^{18,19}. (**Anexo 1**)

Juegan un rol esencial dentro de la hemostasia y la patogénesis de la aterotrombosis. Tras la rotura de una placa de ateroma, estas expresan diversas proteínas que intervienen en su adhesión a la pared vascular lesionada y a la interacción con plaquetas recién incorporadas, formando el trombo blanco. Se sintetizan y liberan diversos agonistas, como son: difosfato de adenosina, trombina y el A2 tromboxano ²⁰.

Fisiología de la hemostasia primaria

Iniciación: Establece un conjunto de cambios morfológicos, permitiendo la liberación y la agrupación de las plaquetas; estas transformaciones son inicialmente cambiables. Los trombocitos discoides cambian su forma a esférica, desarrollan pseudópodos, los gránulos se ubican en el centro y se contactan con pliegues de la membrana, ocasionando la liberación de sustancias activas, potenciando así la etapa de activación plaquetaria; las plaquetas adheridas, el endotelio dañado y los eritrocitos, liberan ADP, esto permite que nuevos trombocitos se unan y formen el tapón plaquetario¹⁹.

Extensión: La activación plaquetaria es un proceso complicado, comienza en la superficie celular debido a interacciones entre un agonista y su receptor plaquetario. El daño endotelial activa el sistema de coagulación y produce cantidades pequeñas de trombina y estas al unirse con el colágeno presenta una alta proporción de ADP, desencadena la desgranulación de los trombocitos¹⁹.

Tras la activación, el trombocito libera el material de los gránulos alfa y densos, en la segunda fase, los lisosomas secretan su contenido y compuestos de oxidación del ácido araquidónico. La liberación de sustancias activas como ADP, fibrinógeno, trombospondina, y FVW por los trombocitos incrementa la adhesión y la agregación de estos, ayuda a la coagulación plasmática y aumenta la tonalidad vascular y la vasoconstricción¹⁹.

Perpetuación: La glucoproteína IIb/IIIa no se adhiere al fibrinógeno de los trombocitos no estimulados. Aunque, después de su activación plaquetaria, la glucoproteína IIb/IIIa padece una transformación estructural que la cambia en un captador de alta compatibilidad para el fibrinógeno. El cual, establece conexiones entre trombocitos adyacentes, lo que conduce a la agregación plaquetaria¹⁹. (**Anexo 2**)

Pruebas de laboratorio

Conteo plaquetario y morfología de las plaquetas

Se determina mediante equipos automatizados, y los rangos normales son de 150.000 a 400.000 por mm³. La observación microscópica del extendido sanguíneo es fundamental para corroborar el número de plaquetas obtenido por el equipo y buscar posibles interferencias y anomalías probables¹⁹.

Recuento por el método directo: Es el recuento del número de plaquetas por milímetro cúbico de sangre; procedimiento en el cual se utiliza la cámara de Neubauer y un líquido de dilución²¹.

Técnica de Brecher Cronkite

Tabla 1. Composición del reactivo de dilución y técnica de Brecker Cronkite

Reactivo de dilución Oxalato de amonio 1% (solución hipotónica)	
Oxalato de amonio	1 g
Agua destilada	100 mL
Procedimiento	
Realizar una dilución de sangre; 1:200 o 1:20 con una solución hipotónica, aspirar la sangre hasta la marca 1.0. Por último, se aspira líquido hasta la señal 101, apartar el tubo aspirador y obturar los extremos de la pipeta. Mezclar inmediatamente por 2 a 3 minutos, desechar las primeras 6 o 7 gotas y se procede a cargar en la cámara de Neubauer. Dejar sedimentar por un tiempo de 20 minutos en una placa Petri, cuyo fondo tenga papel filtro húmedo. Finalmente se va a contar con el lente objetivo de 40 x en las mismas cuadrículas para eritrocitos y se procede a calcular ²¹ .	

Fórmula:

$$\# \text{ de plaquetas por } mm^3 = \frac{N \times 200 \times 10 \times 400}{80}$$

Técnica de Rees Ecker**Tabla 2.** Composición del reactivo de dilución y técnica de Rees Ecker.

Composición del reactivo de Rees Ecker	
Azul de Cresil Brillante	1 g/L
Sodio Citratado	38 g/L
Formol Neutro	22 mL
Agua Destilada	978 mL
Procedimiento	
<p>Depositar en un tubo de ensayo 1,98 mL de líquido de Rees Ecker, pipetear 20 microlitros de sangre junto al líquido diluyente, luego tapar con papel de parafina y agitar. La sangre estará diluída 100 veces (1/100). Cargar la mezcla en la cámara de Neubauer y colocar dentro de una placa de Petri, cuyo fondo tenga papel filtro húmedo, tapar y dejar durante 15 minutos. Colocar el filtro de luz verde en el microscopio óptico y empezar el recuento con el lente de 40x, las plaquetas se visualizan como puntos negros rodeados de un halo blanco, que se distingue al mover el tornillo micrométrico, debido a que poseen birrefringencia²¹.</p>	

Fórmula

$$\# \text{ de plaquetas por } mm^3 = \frac{N \times D \times 10 \times 400}{80}$$

Recuento por el método indirecto: Se utiliza el extendido de sangre periférica para el conteo de plaquetas por milímetro cúbico, bajo el microscopio se observa la morfología plaquetaria. Este método es una forma de evaluación cualitativa de las plaquetas en la muestra de sangre²².

Técnica

- Extraer sangre con EDTA o Heparina
- Hacer una extensión sanguínea posteriormente usar una tinción hematológica Giemsa o Wright para teñir la muestra de sangre.
- Colocar una gota de aceite de inmersión para visualizar la muestra en el microscopio con lente de 100X.
- Contabilizar la cantidad de plaquetas presentes en 10 campos microscópicos.
- Calcular la media de la cantidad de plaquetas contabilizadas en los 10 campos microscópicos²². (**Anexo 3**)

Fórmula

$$\# \text{ de plaquetas por } mm^3 = \frac{\text{Media del \# de plaquetas contadas}}{\# \text{ de campos microscópicos}} \times 10000$$

Resultados

Valores normales de plaquetas: 150.000 a 400.000 por mm^3

Alteraciones cuantitativas:	Alteraciones cualitativas:
<ul style="list-style-type: none">• Trombocitosis: > 400.000• Trombocitopenia: < 150.000• Trombocitemia: > 1000000	<ul style="list-style-type: none">• Macro plaquetas• Micro plaquetas• Agregados plaquetarios

Tiempo de sangría

Determina el tiempo que requiere en detenerse la salida de sangre causada por la incisión ejecutada en pequeños vasos sanguíneos superficiales²³. Se clasifican en dos técnicas importantes que a continuación se detallarán:

Técnica de Duke

Se empieza desinfectando con torundas de alcohol al 80% el lóbulo de la oreja, luego con una lanceta pinchar el lóbulo de la oreja, posteriormente se recoge cada gotita de sangre con un papel filtro, cada 30 segundos. Es muy importante que no se toque la herida con el papel debido a que se puede romper el trombo plaquetario. El tiempo de hemorragia es contabilizado por un cronómetro, desde que se ha puesto en marcha éste hasta que cese la hemorragia²³. (**Anexo 4**)

Resultado normal: 1-3 minutos.

Técnica de Ivy

Primero, desinfectar la zona del antebrazo con alcohol al 80%, después se va a colocar en el brazo el esfigmomanómetro bajo presión continua de 40 mmHg. A continuación, se realiza 1 incisión en el antebrazo con una lanceta desechable (1 milímetro de ancho por 1 centímetro de largo). Por último, iniciar el cronómetro y usar papel de filtro para absorber las gotas de sangre que se forman cada 30 segundos, pero no tocar el borde de la herida para evitar la separación del coágulo; hasta que la sangre deje de fluir²⁴. (**Anexo 5**)

Resultado normal: 2-5 minutos

Prueba de resistencia o fragilidad capilar (prueba de Rumpel-Leede)

La prueba de Rumpel-Leede es una técnica que evalúa la tenacidad que presentan las paredes capilares a la anoxia y al incremento de la presión intracapilar. Utilizada para el diagnóstico del Dengue y diferentes trastornos hemorrágicos por el aumento de la fragilidad²⁵.

Técnica

Se empieza dibujando un círculo de aproximadamente 5 cm de diámetro delante del antebrazo, cuyo borde superior está 5 cm por debajo del pliegue del codo. Luego ubicar en el brazo elegido el manguito del esfigmomanómetro y posteriormente insuflar aire en el interior de este, hasta ejercer una presión semejante a la presión arterial media del paciente,

mantener la presión durante un tiempo de 5 minutos. Finalmente se retira el manguito del esfigmomanómetro y se contabiliza la cantidad de petequias que se han presentado en el interior del círculo²⁶. **(Anexo 6)**

Resultados

Las petequias aparecen como pequeñas manchas rojas en la piel.

- Negativo: menor a 10 petequias.
- Dudoso: si indica la presencia de 10 a 20 petequias.
- Positivo: mayor a 20 petequias.

Prueba de retracción del coágulo (método de MacFarlane)

Es un método cuantitativo que evalúa la capacidad de las plaquetas para retraer el coágulo; depende principalmente de la función normal de los trombocitos y de la fibrina, sucede por la interacción entre los pseudópodos de los trombocitos y las cadenas de fibrina²².

Técnica

La prueba de retracción del coágulo se ejecuta colocando 5 ml de sangre no anticoagulada en un tubo de vidrio graduado e insertando un alambre con múltiples espirales en su extremo inferior. Posteriormente se incuba el tubo a 37 °C durante 1 hora, transcurrido el tiempo, se retira el alambre con el coágulo adherido. Por último, leer el volumen del suero que queda en el tubo, reflejando el resultado como porcentaje²². **(Anexo 7)**

Fórmula

$$\% \text{ de retracción del coágulo} = \frac{\text{Volumen sobrante}}{\text{Volumen inicial}} \times 100$$

Resultados

- Retráctil: 40-65%; el coágulo de sangre se separa completamente del tubo.

- Irretráctil: menor al 40%; permanece el coágulo pegado a las paredes del tubo^{22,27}.

Actividad del cofactor de ristocetina (FVW:RCo)

La prueba FVW:RCo evalúa el potencial del FVW para aglutinar plaquetas normales adheridas con formaldehído en presencia del antibiótico cofactor de ristocetina. La cantidad de aglutinación incitada por la ristocetina se encuentra asociada con la proporción del FVW, por último, se establece como porcentaje de actividad mediante un agregómetro²⁸.

Técnica

El plasma fresco recogido con un anticoagulante de tipo citrato (muestra) se procesa realizando diluciones en solución salina tamponada 1:2 del plasma de control y 1:4 del plasma en análisis. Posteriormente, utilizando el agregómetro se realiza un análisis de las plaquetas activadas con buffer salino y se procede a incubar por 1 minuto. Luego se agrega la ristocetina, posterior a los 45 segundos se agrega las diluciones anteriores. Por último, el agregómetro origina una curva de agregación plaquetaria en porcentaje y tiempo. La presente prueba es capaz de confirmar la presencia de la EVW²⁸. (**Anexo 8**)

Resultados normales: 56 % (56 UI/dL) a 187 % (187 UI/dL).

Recuento de plaquetas por el método de impedancia

Las células son consideradas como partículas absolutamente resistivas y no conductoras en este método. En el momento en que las células están suspendidas en una solución electrolítica y pasan por medio de una abertura, se detecta el cambio en la impedancia eléctrica en esa área. Este método puede ser utilizado para obtener el tamaño y el número de células debido a que cada una de las células proporciona una señal de impedancia, la cual es proporcional al volumen de las células detectadas²¹.

El analizador dispone de un software que tiene incorporado una fórmula con el fin de que la doble coincidencia sea rectificadas. Si bien, la corrección del conteo no define si el pulso

grande se debe al paso de dos células pequeñas o una célula, debido a que no es el camino para rectificar el volumen celular. Los pulsos adquiridos posibilitan proyectarlos en una distribución normal y observarlos en el analizador hematológico como histogramas²¹.

Posibles interferencias

- Recuento de plaquetas grandes como glóbulos rojos lo cual podría dar como resultado una trombocitopenia falsa.
- Una falsa trombocitopenia puede ser causada por la presencia de agregados plaquetarios y a la formación de satelitismo en la muestra de sangre.
- La incompatibilidad con anticoagulantes como el EDTA da como resultado una falsa trombocitopenia
- El conteo de fragmentos o hematíes displásicos pueden causar una falsa trombocitosis.
- Los hematíes microcíticos son contados como plaquetas, debido a que pueden poseer el mismo tamaño²¹.

Analizador de la función plaquetaria o PFA-100

Se utiliza como una opción adicional a las pruebas fundamentales de coagulación. Facilita una valoración veloz de la función de los trombocitos a través de un proceso que usa cantidades mínimas de sangre con el anticoagulante citrato de sodio²⁹.

Técnica

Las muestras sanguíneas utilizadas se absorben mediante un capilar en el cartucho del equipo, además se hallan a su paso una membrana recubierta de colágeno y epinefrina, o con colágeno y adenosindifosfato. Los cartuchos de PAI constan de un almacén de muestra, un capilar y una membrana cubierta por medio de 2 miligramos de equina-colágeno de tipo I y 10 mg de bitartrato de epinefrina, mientras que el cartucho de ADP contiene colágeno de tipo I con 50 miligramos de adenosina 5' difosfato²⁹.

Esta membrana provoca la unión, activación y agregación plaquetarias, lo que desencadena la obstrucción de la abertura central de 150 μm y la interrupción del flujo sanguíneo; el instrumento calcula el tiempo necesario para bloquear el orificio central con un trombo plaquetario²⁹. (**Anexo 9**)

Resultados: Si no se cierra la abertura después de 300 segundos, se informa como "sin cierre"²⁹.

Agregación plaquetaria

El principio de la prueba es utilizar sustancias agonistas para inducir la adhesión y agregación plaquetaria in vitro; el método de medición más comúnmente utilizado es la turbidimetría, donde se agregan agonistas (ADP, epinefrina) a través de un plasma rico o pobre en plaquetas³⁰.

Técnica:

La muestra sanguínea obtenida con citrato de sodio, se centrifuga a 1000 rpm por 15 minutos, adquiriendo PRP, este plasma se pone en un recipiente a 37°C entre una celda solar y una fuente de luz. Para obtener el PPP se va a centrifugar a 3000 rpm por 15 minutos. Una vez obtenido PRP y PPP se añade un agonista plaquetario; adenosindifosfato, epinefrina, colágena, trombina, ristocetina y el ácido araquidónico, con el que se agregarán las plaquetas. Cuanto mayor es la agregación plaquetaria, mayor es la transmisión de luz y viceversa. Por último, la agregación plaquetaria va a generar una curva de acuerdo con el porcentaje y tiempo³¹. (**Anexo 10**)

Resultados

- **Valores Normales:** 30% al 64,5%
- **Hiperagregación plaquetaria:** Mayor al 80%

Alteraciones Plaquetarias

Trombocitopenias hereditarias

Recuento de plaquetas moderadamente bajo y disfunción plaquetaria; poco o ningún sangrado clínico. No se puede sospechar su origen genético sin antecedentes familiares, ya sea porque se hereda de forma recesiva, la trombocitopenia hereditaria pertenece a un gran grupo de enfermedades raras, mutaciones germinales en la formación del trombo plaquetario³².

Trombocitopenias amegacariocíticas congénita: Se trata de una insuficiencia poco común de la médula ósea que se presenta al nacer con trombocitopenia hipomegacariocítica y sin otras características físicas. Este trastorno somático recesivo es provocado por diversas mutaciones del gen c-MPL, que provocan una disfunción del receptor de trombopoyetina³³.

Trombocitopenia con ausencia de radio: Es un trastorno genético que provoca el bajo recuento de plaquetas y anomalías óseas; específicamente por la ausencia bilateral del radio. En la medula ósea, el número de megacariocitos se reduce, así como también se presenta un gran aumento de las concentraciones del receptor de la trombopoyetina. La trombocitopenia por defecto del radio tiene un patrón genético específico que requiere una combinación, y se presenta como una rara variante de un solo alelo³⁴.

Síndrome de Wiskott-Aldrich (WAS): Se le identifica por ser un trastorno genético recesivo que está vinculado al cromosoma X. Excepto en casos raros, el WAS se caracteriza clínicamente por microtrombocitopenia, moderada o grave y por una susceptibilidad a infecciones por inmunodeficiencia³⁴.

Enfermedad relacionada con el gen MYH9 (MYH9-RD): Se presenta como una patología autosómica dominante, debido a la presencia de la alteración del gen MYH9 en donde se codifica la cadena pesada IIA sin miosina. Músculo (proteína NMM-IIA) implicado en la contractilidad citoesquelética³⁵.

Trombocitopatías hereditarias

Defectos en la membrana plaquetar

Alteraciones en las glicoproteínas de la membrana de los trombocitos provocan imperfecciones en la interrelación entre la pared vascular y las plaquetas, de igual manera en la relación plaqueta-plaqueta¹⁹.

Síndrome de Bernard-Soulier (SBS): Se presenta como una forma recesiva autosómica ocasionada por los cambios en la composición genética en 4 genes que codifican las cadenas de las glucoproteínas Ib alfa y beta, y la glucoproteína IX, que va a delimitar la ausencia de los complejos glicoproteicos GP Ib/IX/V, mientras que SBS adquirido presenta un defecto de agregación plaquetaria inducida por fármacos como el antibiótico ristocetina o el veneno botrocetina, este proceso requiere suficiente interacción entre los complejos del FVW¹⁹.

Trombastenia de Glanzmann: Es un trastorno recesivo autosómico, su principal causa es la carencia del complejo GP a2bb3, que impide la formación del tapón plaquetario. Se presenta por diversas mutaciones en donde van a codificar secciones de GP a2bb3, estas van a localizarse en el cromosoma 17. Cabe mencionar que, al presentarse esta alteración plaquetaria, no se va a poder unir correctamente al fibrinógeno¹⁹.

Defectos de los gránulos plaquetarios

Deficiencia de almacenamiento de gránulos densos delta: Carencia en los gránulos densos del contenido de ADP y serotonina. Esta alteración autosómica dominante hereditaria pueden asociarse a enfermedades como: síndrome de Hermansky-Pudlak, albinismo oculocutáneo, síndrome de Chédiak-Higashi¹⁹.

Síndrome de la plaqueta gris: Esta enfermedad hereditaria se presenta de forma recesiva o autosómica dominante, se identifica por la incompetencia de los trombocitos para acumular proteínas a los gránulos alfa; otorgándole una apariencia gris en el extendido sanguíneo¹⁹.

Trastorno plaquetario de Quebec: Revela una alteración dominante autosómica en donde se produce una degradación anormal de varias proteínas presentes en los gránulos α a causa de un aumento del activador del plasminógeno. Esta alteración se caracteriza por la carencia de agregación plaquetaria provocada por la epinefrina¹⁹.

Enfermedad de Von Willebrand

Es el trastorno más habitual de la hemostasia, ocasionado por alteraciones hereditarias del FVW. Esta enfermedad se presenta de forma recesiva o autosómica dominante, perjudica a individuos de ambos sexos. El FVW posee una doble tarea: por un lado, interfiere en la unión de plaquetas y, por otro lado, es el responsable de conservar los niveles del factor VIII en circulación actuando como molécula transportadora³⁶.

Actualmente se han clasificado tres tipos con subtipos diferentes de esta enfermedad. La variante 1 presenta una reducción parcial en los niveles circulantes del FVW, la EVW tipo 2 abarca las variantes de la enfermedad y puede presentar niveles normales o disminuidos de FVW, el tipo 3 es una forma severa de la enfermedad asociada con la escasez del FVW plasmático. En el cromosoma 12 se encuentra el gen del FVW¹⁹.

Trombocitopenias y trombocitopatías adquiridas

Trombocitopenias centrales: En tales casos, la producción de plaquetas en la médula ósea falla, pese a que el tiempo vital promedio de los trombocitos en la sangre es de 7 a 9 días. La deficiencia medular puede ser causada por alteraciones que influyen a la trombopoyesis¹⁹.

Trombocitopenias aloinmunes: Los trombocitos poseen diversos complejos antigénicos como los antígenos del sistema mayor de histocompatibilidad y varios de la tipificación ABO aptos de alentar la síntesis de anticuerpos. Las plaquetas presentan antígenos concretos nombrados PLA, localizados en establecidos epítopes de la glucoproteína IIIa. Los anticuerpos anti-HLA o los sistemas anticuerpo-fármacos son aptos de fijar complemento y ocasionar la destrucción plaquetaria¹⁹.

Trombocitopenia neonatal: Se presentan en infantes críticamente enfermos, principalmente en prematuros, que presentan coagulación intravascular diseminada o sepsis. En varios niños los trombocitos progenitores no tienen el antígeno plaquetario PLA-1 dando origen a un síndrome en el que el paso de plaquetas PLA-1+ del niño a la progenitora provoca la presencia de anticuerpos que actúan contra las plaquetas en la madre^{19,37}.

Púrpura postransfusional: No tienen el antígeno PLA-1 en la membrana de los trombocitos, estos pacientes poseen la opción de ser sensibilizados por medio de la transfusión de sangre PLA-1+. Los signos clínicos son pocos, y únicamente tienen como problema la destrucción inmediata de las plaquetas transfundidas¹⁹.

Trombocitopenia inducida por fármacos o TIF: Este trastorno es la causa frecuente de conteos bajos de plaquetas. Los mecanismos responsables de la TIF engloban una reducción en la producción (supresión medular) o una elevación en la destrucción (por mecanismos inmunes)³⁸.

Trombocitopenia inmune primaria

La trombocitopenia inmune primaria (PTI) es una anomalía adquirida que afecta a adultos e infantes produciendo una trombocitopenia causada por el sistema inmunitario. Presenta las siguientes características: 1) presencia de una trombocitopenia periférica; 2) en la médula ósea existe la presencia de megacariocitos; 3) detección de autoanticuerpos que atacan a las plaquetas; 4) carece de la afección subyacente¹⁹.

Trombocitopenias complejas

Púrpura trombótica trombocitopénica: Puede tener una causa genética familiar por la carencia de la enzima proteasa ADAMTS13 responsable de la ruptura del FVW. Esta enzima codifica mutaciones genéticas que identifica defectos severos de la proteasa. La variante adquirida puede originarse sin una causa identificable o manifestarse en un cáncer, en enfermedades autoinmunes o en el uso de medicamentos¹⁹.

Síndrome hemolítico urémico: Presenta manifestaciones clínicas, se distingue por la existencia de anemia microangiopática hemolítica, trombocitopenia e insuficiencia renal aguda. El SHU se desarrolla después producirse un daño en la célula endotelial. Este daño endotelial conducirá a una activación de las plaquetas con la posterior agrupación plaquetaria y el desarrollo de trombos en la microcirculación. Aquellos microtrombos causarán el bloqueo de la luz vascular y, por ende, isquemia tisular. Adicional, la anemia hemolítica se origina cuando los eritrocitos atraviesan estos trombos plaquetarios y se fragmentan³⁹.

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

Enfoque de la investigación.

Tiene un enfoque cualitativo porque que se caracterizó por la recolección de datos, donde se obtuvo información de libros, artículos científicos, documentos de medios que garantizaron su autenticidad y que ofrecieron una investigación certera y verídica sobre las pruebas de laboratorio en la valoración de la hemostasia primaria.

Tipo de Investigación.

Según el Nivel

La investigación fue de nivel descriptivo en vista de que se analizó y detalló las características de cada una de las pruebas de laboratorio que fueron necesarias para la valoración la hemostasia primaria mediante la búsqueda de información en diferentes bases de datos ya sea de libros, artículos científicos, revistas actualizadas y relevantes.

Según el diseño

El presente trabajo fue de diseño documental, no experimental dado que permitió el estudio del tema propuesto donde se amplió, profundizó y correlacionó con otros estudios semejantes de publicaciones previas con avances científicos/tecnológicos, la información que se utilizó para la propuesta de este tema se obtuvo de diversas fuentes bibliográficas, actualizadas y de relevancia con carácter científico en el que hicieron mención a las pruebas de laboratorio en la valoración de la hemostasia primaria, sin manipulación de variables.

Según la secuencia temporal

Esta investigación fue tipo transversal debido a que su característica fue la recolección de datos en un periodo de tiempo determinado y único, con un solo grupo de resultados y sin ningún grupo de controles.

Según la cronología de hechos

El trabajo de investigación fue de tipo retrospectivo por razones de que el estudio se empezó siguientes a los hechos, los datos de diversos estudios se hallan registrados en distintas revistas científicas y publicaciones confiables, verídicas y asociadas a las pruebas de laboratorio en la valoración de la hemostasia primaria.

Población

Para esta investigación el total de la población fue establecida con 65 fuentes bibliográficas, primordialmente artículos científicos actualizados y relevantes en bases de datos como Elsevier, Google académico, Medigraphic, Scielo, Science Direct y PubMed, que contribuyeron con información acerca de las pruebas de laboratorio para la valoración de la hemostasia primaria.

Muestra

Para conformar la muestra se seleccionó 30 fuentes bibliográficas, específicamente artículos científicos que fueron sometidos a criterios de inclusión y exclusión. Estos correspondieron a publicaciones de artículos e investigaciones confiables y verídicas relacionadas al tema a tratar, que se hallan en bases de datos como Elsevier, Google académico, Medigraphic, Scielo, Science Direct y PubMed.

Criterios de inclusión:

- Artículos científicos con información actualizada y relevante acerca de las diferentes pruebas de laboratorio para la valoración de la hemostasia primaria.
- Artículos científicos y libros en distintos idiomas, debido a que diversas investigaciones referentes al tema se encuentran dichos idiomas.
- Artículos Científicos de los últimos 10 años de haber sido publicados pero vigentes en información.

Criterios de exclusión:

- Artículos científicos cuyos contenidos demostraron información poco relevante o no vigente, también se descartaron artículos científicos mal documentados o incompletos.
- Artículos científicos que no se hallaron en las bases científicas.
- Artículos científicos que cuentan con más de 10 años de haber sido publicados.

Métodos y procedimientos

Se seleccionó las fuentes bibliográficas tomando en cuenta el título y resultados del estudio, para establecer el grado de correlación con el tema a abordar. Posteriormente se efectuó una lectura crítica de las investigaciones realizadas por los investigadores y profesionales. Después se escogió dichas fuentes bibliográficas que cumplen con los criterios de inclusión y exclusión. Finalmente, este trabajo de investigación fue elaborado a partir de las fuentes de información seleccionadas.

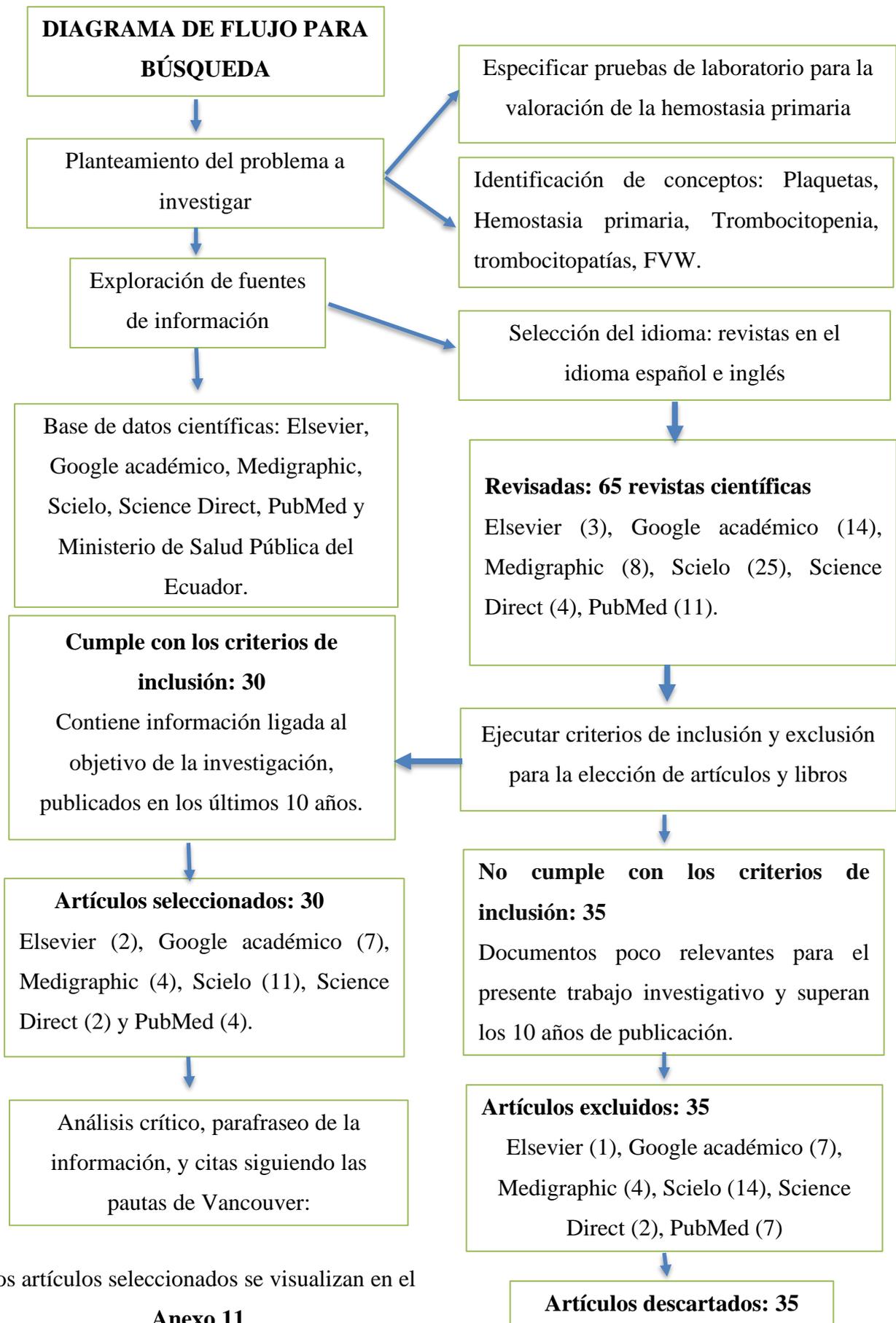
Técnicas y materiales

Se empleó fundamentalmente la revisión de distintas fuentes bibliográficas para la recolección información certera y verídica que hizo posible la ejecución de la investigación. Los materiales englobaron cada una de las fuentes bibliográficas de las cuales se recopilaban los artículos.

Consideraciones éticas

Este trabajo investigativo fue de recopilación bibliográfica por lo que, no se toma en cuenta las consideraciones éticas. Sin embargo, se cumple con todas las normas de anti-plagio y de fundamentos bioéticos establecidos.

Estrategia de búsqueda bibliográfica



CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 3. Métodos y técnicas utilizados en el diagnóstico de trastornos de la hemostasia primaria.

Nº	Autores	Población	Pruebas de Laboratorio	Métodos/Técnicas	Trastorno
1	Nieto C, et al ⁴⁰ .	4,092	Recuento de Plaquetas	Manual	<ul style="list-style-type: none"> • Enfermedad de Von Willebrand
			Tiempo de Sangría	Manual: técnica de Duke	
2	Campo M, et al ⁴¹ .	305	Recuento de plaquetas y morfología plaquetaria	Manual: extendido sanguíneo	<ul style="list-style-type: none"> • Síndrome de Bernard-Soulier
			Agregación plaquetaria	Automatizado: agregometría	
3	Mora J, et al ⁴² .	723	Recuento de plaquetas	Manual	<ul style="list-style-type: none"> • Trombocitopenia Inmune Primaria
4	García L, et al ⁴³ .	200	Recuento de plaquetas y morfología plaquetaria	Manual: extendido sanguíneo	<ul style="list-style-type: none"> • Trombocitopenia Inmune Primaria

5	Rodríguez L, et al ⁴⁴ .	126	Agregación plaquetaria	Automatizado: agregometría	<ul style="list-style-type: none"> • Síndrome de la plaqueta gris
6	Mendoza Y ⁴⁵ .	312	Prueba de retracción del coágulo	Manual	<ul style="list-style-type: none"> • Tromboastenia
7	Heller P, et al ⁴⁶ .	114	Recuento de plaquetas	Manual	<ul style="list-style-type: none"> • Trombocitopenias hereditarias
			Morfología plaquetaria	Automatizado: contador hematológico automatizado (Sysmex XS1000i)	
			Agregación plaquetaria	Automatizado: turbidimétrico de Born	
8	Mesa L, et al ⁴⁷ .	192	Agregación plaquetaria	Automatizado: turbidimétrico de Born	<ul style="list-style-type: none"> • Trombocitopenias

9	González & Arpa ⁴⁸ .	75	Prueba de resistencia o fragilidad capilar	Manual: técnica de Rumpel-Leede	<ul style="list-style-type: none"> • Trombocitopenia inducida por dengue
10	Gutiérrez C, et al ⁴⁹ .	64	Recuento de plaquetas	Manual	<ul style="list-style-type: none"> • Trombocitopenia inducida por dengue
			Prueba de resistencia o fragilidad capilar	Manual: técnica de Rumpel-Leede	
11	Hernández E, et al ⁵⁰ .	155	Actividad del cofactor de ristocetina	Manual: determinación semicuantitativa	<ul style="list-style-type: none"> • Enfermedad de Von Willebrand
12	Wieland I, et al ⁵¹ .	20	Analizador de la función plaquetaria	Automatizado: PFA-100	<ul style="list-style-type: none"> • El síndrome de Von Willebrand adquirido • Disfunción plaquetaria

Discusión

Varios autores^{40,41,43} coinciden en que el recuento de plaquetas por método indirecto (extensión sanguínea) es una de las pruebas globales que se utilizan para la evaluación de la hemostasia, dado que en pacientes normales refleja el equilibrio presente entre la producción en médula ósea y los trombocitos en circulación periférica, además de determinar su número, tamaño y forma. Mientras que otros autores^{42,46,49} realizaron el conteo de plaquetas en cámara de Neubauer. También, Heller P, et al⁴⁶ determinó el volumen plaquetario a través del contador hematológico (Sysmex XS1000i), lo que facilitó la clasificación en base al tamaño plaquetario.

Otra de las pruebas importantes en la valoración de la hemostasia primaria es el tiempo de sangría. Nieto C, et al⁴⁰ menciona en su estudio que el tiempo de sangría es una medida del componente plaquetario y vascular, además concluyó en que la causa que ocasionó la prolongación del tiempo de sangría por el método de Duke fue la enfermedad de Von Willebrand.

Varios autores concuerdan en que la evaluación de la función plaquetaria se realiza mediante agregación plaquetaria^{41,44,46,47}. En la investigación realizada por Heller P, et al⁴⁶, la prueba agregación plaquetaria se efectuó por el método turbidimétrico de Born, donde se hizo uso de un lumi-agregómetro, en el cual se incubó el plasma rico en plaquetas de controles y pacientes, con los diferentes agonistas ADP, epinefrina, ristocetina, ácido araquidónico, colágeno, y FVW. La prueba de agregación se ejecutó únicamente en los casos que tenían cantidades de PRP superiores a 100.000 plaquetas por mm³.

Rodríguez L, et al⁴⁴ en su estudio ejecutado a 126 mujeres con pérdidas fetales recurrentes concluyó que el diagnóstico del síndrome de plaquetas pegajosas se realiza a través de la técnica de agregometría que establece el porcentaje de agregación por turbidimetría en presencia de epinefrina y de los agonistas ADP a diferentes concentraciones.

La retracción del coágulo depende esencialmente de la fibrina y de la función normal de los trombocitos. Mendoza Y⁴⁵ en su investigación realizada a 312 pacientes, en la que se efectuó

la prueba de retracción del coágulo manual, obtuvo como resultado que; 12 de las muestras fueron parcialmente retráctiles. Esta técnica se realiza por el método manual.

En la investigación realizada por González & Arpa⁴⁸ a 75 pacientes, la prueba de Rumpel-Leede fue positiva en 12 casos; mientras que, en el estudio realizado por Gutiérrez C, et al⁴⁹ a 64 pacientes, 52 pacientes dieron positivo, presentando más de 20 petequias en el círculo de 5 cm de diámetro, por tal motivo el conteo de plaquetas presentó valores bajos, en los individuos que poseen dengue, indicando una trombocitopenia inducida por dengue.

La prueba actividad del cofactor de ristocetina semicuantitativa calcula la habilidad del FVW para aglutinarse con plaquetas normales. Según, la investigación realizada por Hernández E, et al⁵⁰ a 155 pacientes; el FVW y las plaquetas interactúan con un antibiótico, la ristocetina, también menciona que el uso de esta se suspendió en pruebas clínicas debido a que causa trombocitopenia, si bien aún se utiliza en las pruebas de laboratorio, dado que es, la prueba funcional más aceptada para el FVW.

Según Wieland I, et al⁵¹ dentro del PFA-100, las muestras sanguíneas se absorben a elevadas velocidades por medio de un capilar en el cartucho del equipo y en su travesía se hallan con una membrana que contiene una capa de colágeno-epinefrina, o con colágeno junto con ADP. Esta membrana provoca la unión de plaquetas, activación y formación de agregados plaquetarios. Se reporta el tiempo (segundos) que requieren los agregados plaquetarios en obstruir el orificio; después de 300 segundos, se informa como «sin cierre».

Tabla 4. Causas que producen alteraciones cuantitativas y funcionales de las plaquetas.

Nº	Autores	Población	Género		Alteraciones Cuantitativas/funcionales	Causas
			Masculino	Femenino		
1	Heller P, et al ⁴⁶ .	114	62	52	Macro plaquetas	Desorden relacionado al gen MYH9
					Micro Plaquetas	Mutación del gen WAS (Wiskott-Aldrich).
2	Regueiro A, et al ⁵² .	1	1	-	Macro plaquetas	Mutación heterocigota compuesta en el gen NBEAL2
					Trombocitopenia	
3	Rodríguez B, Díaz L, Santa M ⁵³ .	1	1	-	Trombocitopenia	Mutaciones Genéticas
					Macro plaquetas desagregadas	
4	Conte G, López M, Alarcón P ⁵⁴ .	3	1	2	Plaquetas gigantes e inclusiones tipo cuerpos Döhle	Mutaciones del gen MYH-9.
					Trombocitopenia	

5	Aldana A, et al ⁵⁵ .	47	32	15	Trombocitopenia	Presencia de autoanticuerpos dirigidos contra las plaquetas
6	Pinilla A, et al ⁵⁶ .	2	2	-	Trombocitopenia	Fármacos: <ul style="list-style-type: none"> • Ceftarolina • Daptomicina
7	Bueno M, et al ⁵⁷ .	2	-	2	Trombocitopenia	<ul style="list-style-type: none"> • Tamoxifeno • Letrozol
8	Martínez E, et al ⁵⁸ .	2	1	1	Trombocitopenia	Aloanticuerpos plaquetarios que reacciona con un antígeno de las plaquetas
9	Tirupathi K, et al ⁵⁹ .	200	112	88	Trombocitopenia	<ul style="list-style-type: none"> • Sepsis, Asfixia al nacer • Prematuridad • Intra-retraso uterino • Hiperbilirrubinemia • Síndrome de dificultad respiratoria • Síndrome de aspiración de meconio • Bajo peso al nacer.
10	Saldaña C, et al ⁶⁰ .	250	129	121	Trombocitopenia	<ul style="list-style-type: none"> • Prematuros

Discusión

En la tabla 2 se evidencian las diferentes causas presentes en las alteraciones cuantitativas y funcionales de las plaquetas; según Heller P, et al⁴⁶ en su investigación realizada a 114 pacientes, el 80% de las familias presentaron macro plaquetas causada principalmente por el desorden asociado al gen MYH9, el 2% tuvieron micro plaquetas ligada al cromosoma X que se diagnosticó tras el descubrimiento de una mutación del gen Wiskott-Aldrich y el 18% presentó plaquetas de tamaño normal.

De acuerdo con el análisis realizado por Regueiro A, et al⁵², el síndrome de plaquetas grises (SPG) se caracteriza por presentar las siguientes alteraciones; macro trombocitopenia y disminución de los gránulos alfa en plaquetas y megacariocitos, estas son causadas por una mutación heterocigota o homocigota compuesta en el gen NBEAL2 que codifica la proteína parecida a neurobeachina 2.

A través del estudio realizado por Rodríguez B, et al⁵³ sobre un caso de trombocitopenia con ausencia de radios se determinó la presencia de trombocitopenia y macro plaquetas desagregadas, encontrando como causas de estas alteraciones, las mutaciones genéticas. Este trastorno se hereda frecuentemente como un patrón recesivo autosómico, sin embargo, se ha demostrado heterogeneidad genética. También indicó que perjudica a menos de 1 individuo por cada 100.000 individuos, sin hacer diferencia entre sexos.

Conte G, et al⁵⁴ en un estudio realizado a una paciente de 51 años se demostró que la trombocitopenia, macro plaquetas gigantes e inclusiones citoplasmáticas en leucocitos tipo cuerpos de Döhle son alteraciones de la trombocitopenia hereditaria relacionada a gen MYH9; la causa de estas alteraciones son las mutaciones del gen MYH-9.

En la investigación realizada por Aldana A, et al⁵⁵ se expone que la púrpura trombocitopénica idiopática tiene como alteración plaquetaria a la trombocitopenia causada por la existencia de autoanticuerpos dirigidos hacia las plaquetas. La incidencia de este trastorno se establece en 4 a 10 casos por cada 100,000 niños por año, predominando en niños de 2 a 8 años.

Otra de las causas de la trombocitopenia es la inducción de fármacos. En la investigación realizada por Pinilla, et al⁵⁶ a 2 individuos se determinó que la causa de la trombocitopenia está asociada a la ceftarolina y la daptomicina utilizados para tratar endocarditis infecciosa por *Staphylococcus aureus* meticilin-resistente (SARM). Bueno, et al⁵⁷ mencionó en su investigación que el tratamiento con tamoxifeno y letrozol provoca que los pacientes desarrollen trombocitopenia, además cita que tras la retirada del fármaco causante se recupera paulatinamente los valores normales de las plaquetas.

Martínez, et al⁵⁸ define como trombocitopenia aloimmune del feto y el neonato como aquella procedente de la formación de aloanticuerpos plaquetarios específicos de la madre que reacciona con un antígeno de las plaquetas fetales/neonatales de origen paterno que encamina a la fragmentación de estas. También hace mención que el responsable de la incompatibilidad materna en el 75% de los casos es el antígeno HPA-1a, en segundo lugar, el involucrado es el HPA-5b con el 16% de los casos y el tercer lugar lo ocupa el HPA-15 b con un 4%.

Según Tirupathi, et al⁵⁹ existen varios procesos patológicos que pueden causar trombocitopenia en los neonatos, entre las causas significativas son; asfixia al nacer, sepsis, intra- retraso uterino, prematuridad, hiperbilirrubinemia, peso insuficiente al nacer, síndrome de dificultad respiratoria y síndrome de aspiración de meconio. En el estudio realizado por este autor a 200 bebés, se determinó que la sepsis fue la causa más frecuente de trombocitopenia neonatal; estuvo presente en 97 bebés, la asfixia en 40, el síndrome de dificultad respiratoria en 14, la hiperbilirrubinemia en 39 y el síndrome de aspiración de meconio en 10 bebés.

La trombocitopenia es una condición común en los neonatos prematuros; ocasionada por la médula ósea inmadura que produce insuficientes plaquetas o a una destrucción acelerada de estas. Saldaña, et al⁶⁰ denota que la presencia de trombocitopenia (recuento de plaquetas por debajo de 150.000 cel/ml) en el primer día de vida de los neonatos prematuros es un factor de riesgo para presentar ductus arterioso persistente.

Tabla 5. Resultados de laboratorio en patologías más frecuentes de la hemostasia primaria.

N°	Autores	Población	Género		Edad	Prueba de laboratorio	Resultados \bar{x}	Patología
			Masculino	Femenino				
1	Martínez L, et al ⁶¹ .	25	13	12	De <1 a >18 años	Recuento de plaquetas y morfología plaquetaria	84.736 plaquetas por mm ³	<ul style="list-style-type: none"> • Trombocitopenia no especificada • Trombocitopenia secundaria
2	Rodríguez C, et al ⁶² .	31	18	13	De 0 a 13 años	Recuento de plaquetas	11.079 plaquetas por mm ³	Trombocitopenia inmune primaria
3	Romero A, et al ⁶³ .	1	-	1	75 años	Tiempo de sangría	Técnica de Duke: > 6 minutos.	Trombocitopenia inmune
4	Gutiérrez C, et al ⁴⁹ .	64	27	37	De 1 a 74 años	Prueba de resistencia o fragilidad capilar	Positivo	Trombocitopenia inducida por dengue

5	Ferrer E ⁶⁴ .	1	-	1	32 años	Prueba de resistencia o fragilidad capilar	Positivo	Trombocitopenia inducida por dengue
6	Alayón C, et al ⁶⁵ .	1	1	-	80 años.	Prueba de retracción del coágulo	Irretráctil	Púrpura trombocitopénica inmunológica
7	Wieland I, et al ⁵¹ .	20	4	16	De 1,9 a 21,3 años	Analizador de la función plaquetaria	> 300 segundos (Sin cierre)	<ul style="list-style-type: none"> • El síndrome de Von Willebrand adquirido • Disfunción plaquetaria
8	Ghariani I, et al ⁶⁶ .	5	5	-	De 50 a 75 años	Analizador de la función plaquetaria	> 300 segundos	Síndrome de Von Willebrand adquirido
9	Rodríguez M, et al ⁴⁴ .	126	-	126	De 18 a 40 años	Agregación plaquetaria	Hiperagregabilidad plaquetaria	Síndrome de plaquetas pegajosas

10	Esquivel D, et al ⁶⁷ .	2	1	1	De 3 y 17 años	Agregación plaquetaria	Hiperagregabilidad plaquetaria	Síndrome de plaquetas pegajosas.
11	Toro M & Aguilar A ⁶⁸ .	1	-	1	18 años	Actividad del cofactor de ristocetina	5,1 UI/dL.	Enfermedad de Von Willebrand
12	Martín M & Partida A ⁶⁹ .	1	-	1	29 años	Actividad del cofactor de ristocetina	<9,9 U/dL	Enfermedad de Von Willebrand tipo 2A

Discusión

En la tabla 3 denota la interpretación de los resultados de laboratorio que se presentan en patologías más frecuentes de la hemostasia primaria ya sean estos heredados o adquiridos a lo largo de su vida.

En un estudio realizado por Martínez et al⁶¹ a 25 pacientes, 20 menores de un año y 5 mayores a 18; reportó en el recuento de plaquetas un promedio de 84.736 plaquetas por mm³ interpretándose como una trombocitopenia leve. Con respecto al diagnóstico, los pacientes fueron clasificados de la siguiente manera; el 80% (20) de los pacientes con trombocitopenia no especificada, mientras que el 20% (5) sobrante con trombocitopenia secundaria. De esta investigación podemos deducir que la trombocitopenia es habitual en menores de 1 año.

Mientras que en el estudio realizado por Rodríguez C et al⁶² a 31 pacientes que presentaron trombocitopenia inmune primaria, el número promedio de plaquetas fue de 11.000 plaquetas por mm³. Presentaban <20.000 plaquetas por mm³ el 83,8% de pacientes al diagnóstico y el 13% presentó trombocitopenia severa; <5.000 plaquetas por mm³. Además, los resultados de la prueba de hemoglobina iniciales fueron anormales, por lo tanto, se efectuó un análisis de médula ósea, el cual ratificó el inicio de la trombocitopenia.

Una de las pruebas de laboratorio que analizan las distintas rutas de la coagulación es el tiempo de sangría, Romero et al⁶³ en el análisis de un caso clínico obtuvo como resultado en la técnica de Duke un tiempo de 6 minutos; siendo los valores normales de 1-3 minutos, detectándose en la paciente una trombocitopenia inmune.

En la investigación realizada por Gutiérrez et al⁴⁹ a 64 pacientes, 27 hombres y 37 mujeres, con un intervalo de edad de 1 a 74 años; la prueba de Rumpel-Leede fue positiva en 12 pacientes, también en el análisis clínico realizada por Ferrer E⁶⁴ a una paciente se reportó que esta prueba fue positiva, presentando más de 20 petequias (pequeñas manchas hemorrágicas) dentro del círculo. Además, la prueba de torniquete positiva fue el único elemento clínico considerablemente asociado al dengue, mediante el recuento de leucocitos y plaquetas se determinó leucopenia y trombocitopenia entre los pacientes con esta infección.

La prueba de retracción del coágulo evalúa la función de las plaquetas. En un análisis clínico realizado por Alayón C, et al⁶⁵ se obtuvo el siguiente resultado; prueba de retracción del coágulo irretráctil, indicando una función anormal de las plaquetas. En conjunto con resultados obtenidos de diversas pruebas, el diagnóstico del paciente fue púrpura trombocitopénica inmunológica.

Según Ghariani I, et al⁶⁶ el PFA-100 ofrece una valoración rápida y sencilla de la función plaquetaria, en un análisis realizado por Wieland I, et al⁵¹ a historias clínicas de 20 pacientes, dos individuos presentaron resultados prolongados en el PFA > 300 segundos indicando el tiempo requerido por los agregados plaquetarios en obstruir el orificio; después de 300 segundos, se informa como «sin cierre». Junto con los resultados del análisis sistemático de las variables de Von Willebrand y el análisis de multímeros; un individuo fue diagnosticado con síndrome de Von Willebrand adquirido, y el otro con disfunción plaquetaria.

En una investigación realizada por Rodríguez M, et al⁴⁴ a 126 mujeres con un intervalo de edad de 18 a 40 años se obtuvo los siguientes resultados en a prueba de agregación plaquetaria; 27 fueron positivas a la investigación de hiperagregabilidad plaquetaria con difosfato de adenosina y epinefrina, representando el 21 % de positividad en la población analizada. Además, Esquivel D, et al⁶⁷ en su estudio cita que la hiperagregabilidad es una particularidad del síndrome de las plaquetas pegajosas.

Finalmente, la prueba FVW: RCo calcula la capacidad del FVW en aglutinar plaquetas adhiriéndose al receptor de la glucoproteína Ib, en presencia de la ristocetina. En un análisis clínico realizado por Toro & Aguilar⁶⁸ a una paciente embarazada diagnosticada con EVW tipo 3 se obtuvo el siguiente resultado en esta prueba; 5,1 UI/dL, indicando mayor frecuencia de existir complicaciones hemorrágicas durante el embarazo. En su análisis clínico Martín M & Partida A⁶⁹ obtuvo como resultado de la prueba FVW: RCo <9,9 UI/dL siendo útil para el diagnóstico de EVW tipo 2, también menciona que los niveles normales del FVW: RCo son de 50-150 UI/dL.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES

- Por medio de esta investigación se identificó las diferentes pruebas que se utilizan para el diagnóstico de los trastornos de la hemostasia primaria, estas se basan en métodos, técnicas manuales y automatizadas como el conteo plaquetario, morfología de plaquetas y tiempo de sangría, siendo estas las más utilizadas. También se cuenta con la prueba de retracción del coágulo, prueba de resistencia o fragilidad capilar y actividad del cofactor de ristocetina, hasta técnicas más automatizadas como el PFA-100 y la agregación plaquetaria.
- La causa de las alteraciones cuantitativas o trombocitopenias hereditarias es la presencia de diversas mutaciones genéticas que ocasionan una producción plaquetaria ineficaz. En cambio, las causas de las alteraciones funcionales o trombocitopatías hereditarias comprende una serie de defectos hereditarios que se mencionan a continuación; disminución en los gránulos α en los trombocitos, plaquetas gigantes, micro y macro plaquetas, siendo esta la alteración plaquetaria más común. Por otro lado, las causas más frecuentes de las trombocitopenias y trombocitopatías adquiridas son inducidas por fármacos, enfermedades autoinmunes, asfixia al nacer, sepsis, prematuridad, hiperbilirrubinemia y bajo peso al nacer.
- A través de los artículos analizados se evidenció que la patología más común en la hemostasia primaria es la trombocitopenia, que se caracteriza por presentar valores inferiores a 150.000 plaquetas por mm^3 , mientras que valores prolongados (> 6 minutos) en la prueba tiempo de sangría indica estados trombocitopénicos. Mediante la prueba de resistencia o fragilidad capilar un resultado afirmativo denota que los capilares sanguíneos son más propensos a romperse, manifestándose como petequias que son propias de una trombocitopenia inducida por dengue. Si en la prueba retracción del coágulo da un resultado “irretráctil” indica que el coágulo de sangre no se contrae sugiriendo posibles trastornos hemorrágicos.

Finalmente, resultados prolongados del PFA-100 (> 300 segundos) sugieren que las plaquetas tardan más de lo normal en activarse y formar el tapón plaquetario, lo cual puede indicar una posible disfunción plaquetaria. Un resultado de hiperagregabilidad

plaquetaria puede señalar una respuesta exagerada de las plaquetas a agruparse y formar coágulos sanguíneos de manera excesiva, este hallazgo puede ser indicativo del síndrome de plaquetas pegajosas. Un resultado disminuido (5,1 UI/dL.) en la prueba actividad del cofactor de ristocetina señala una reducción en la capacidad del FVW para aglutinar plaquetas, especialmente asociada a la enfermedad de Von Willebrand.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alonso C, Alegre A. Manual del Médico Residente en Hematología y Hemoterapia. [Online]: Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia; 2014. Acceso 06 de febrero de 2024. Disponible en: https://elenfermerodelpendiente.files.wordpress.com/2015/10/manual_medico_residente_hematologia_2015.pdf.
2. González A, Peña A, Rojas M. Fisiología de la hemostasia y su alteración por la coagulopatía en COVID-19. Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM. 2020; 63(5). DOI: <https://doi.org/10.22201/fm.24484865e.2020.63.5.08>.
3. Federación Mundial de Hemofilia. Informe del Sondeo Mundial Anual 2020. [Online]; 2021. Acceso 18 de marzo de 2024. Disponible en: <https://www1.wfh.org/publications/files/pdf-2106.pdf>.
4. Hernández E, Zavala C, Quintana S, Reyes E. Enfermedad de von Willebrand, biología molecular y diagnóstico. Cirugía y Cirujanos. 2015; 83(3). DOI: [10.1016/j.circir.2015.05.010](https://doi.org/10.1016/j.circir.2015.05.010).
5. Arjun M, Varinder M. von Willebrand Disease: A Concise Review and Update for the Practicing Physician. Sage journals. 2017; 23(8): p. 900-910. DOI: [10.1177/1076029616675969](https://doi.org/10.1177/1076029616675969).
6. Tovar C, Salazar A, Rumbo J, Sierra M, Madariaga I, Zarante I. ¿Qué avances recientes hay en el entendimiento, diagnóstico y tratamiento de la enfermedad de Von Willebrand?: una revisión de la literatura. Universitas Medica. 2020; 61(2).
7. National Organization for Rare Disorders. Trombocitopenia inmune. [Online]; 2022. Acceso 18 de marzo de 2024. Disponible en: <https://rarediseases.org/es/rare-diseases/immune-thrombocytopenia/>.
8. Martínez L, Quintero D. Trombastenia de Glanzmann: conceptos clave de la enfermedad. Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia. 2019; 35(2).
9. Roldán M, Roldán L, Thowinson M, Martínez L. Síndrome de Bernard-Soulier. Medicina interna de México. 2019; 35(5). DOI: <https://doi.org/10.24245/mim.v35i5.2657>.

10. Ministerio de Salud Pública. Fortalecimiento del Ministerio de Salud Pública en el Sistema Nacional de Sangre. [Online]; 2019. Acceso 06 de febrero de 2024. Disponible en: <https://www.salud.gob.ec/fortalecimiento-del-ministerio-de-salud-publica-en-el-sistema-nacional-de-sangre/>.
11. Castro G, Naranjo G. Prevalencia de la hemofilia a en la provincia Bolívar. [Online]; 2023. Acceso 06 de febrero de 2024. Disponible en: <https://alfapublicaciones.com/index.php/alfapublicaciones/article/view/379>.
12. Becerra J. Caracterización clínica y de laboratorio en la enfermedad de Von Willebrand. [Online]; 2023. Acceso Enero de 30de 2024. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/10592>.
13. Grimaldo F. Fisiología de la hemostasia. Revista Mexicana de Anestesiología. 2017; 40(2).
14. American Cancer Society. Niveles bajos de plaquetas (sangrado). [Online].; 2016. Acceso 24 de Enero de 2024. Disponible en: <https://www.cancer.org/es/cancer/como-sobrellevar-el-cancer/efectos-secundarios/recuentos-sanguineos-bajos/sangrado.html>.
15. Zafra D, Rodríguez M, Castro N, Martínez J. Enfermedades de la hemostasia primaria. Púrpuras vasculares. Enfermedades de las plaquetas. Medicina - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado. 2020; 13(22).
16. Guerrero B, López M. Generalidades del sistema de la coagulación y pruebas para su estudio. Investigación Clínica. 2015; 56(4).
17. Flores O, Ramírez K, Meza J, Nava J. Fisiología de la coagulación. Revista Mexicana de Anestesiología. 2014; 37(2).
18. Rauch A, Paris C. Hemostasia primaria. EMC - Tratado de Medicina. 2017; 22(1).
19. Moraleda J. Pregrado de Hematología. Cuarta ed. Madrid: Sociedad Española de Hematología y Hematoterapia: 2017.
20. López A, Macaya C. Plaqueta: fisiología de la activación y la inhibición. Revista española de Cardiología. 2014; 13(B): p. 2-7. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1131-3587\(13\)70073-6](https://doi.org/10.1016/S1131-3587(13)70073-6).
21. Álvarez C. "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". [Online]; 2018. Acceso 25 de febrero de 2024. Disponible

en:

https://repositorio.uap.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/20.500.12990/2701/tesis_comparacion.m%3bn.m%3a9todos_impedancia.fluorescencia_recuento%20plaque_tas_pacientes%20trombocitopenia_Hospital%20de%20mayo_Lima.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

22. López S. Pruebas de coagulación. Acta Pediátrica de México. 2017; 37(4). DOI: <https://doi.org/10.18233/APM37No4pp241-245>.
23. Matnuzzo M. Pruebas de laboratorio para la evaluación de la hemostasia: fundamentos básicos. HEMATOLOGÍA, Fisiología de la hemostasia normal. 2017; 21(56-68).
24. George W. Aplicación del método clínico-epidemiológico en la formación del interno de medicina en Arbovirosis. Revista Electrónica para maestros y profesores. 2020;(Número Especial 1).
25. Basurto X. Algunas consideraciones generales clínicas epidemiológicas del dengue. Revista Científico Dominio de las Ciencias. 2016; 2(Extra 0).
26. Rivadeneira E, Galán R, Zamora I. Guía de laboratorio de hematología. [Online]; 2020. Acceso 6 de marzo de 2024. Disponible en: <https://www.uv.mx/qfb/files/2020/09/Guia-de-Hematologia-Laboratorio.pdf>.
27. García J, Hernández J, Sánchez B. Consenso mexicano para el diagnóstico y tratamiento de la trombostenia de Glanzmann. Gaceta médica de México. 2022; 158(4). <https://doi.org/10.24875/gmm.m22000691>.
28. Mejía L, Pérez M, Vizcaíno J. Diagnóstico de la enfermedad de Von Willebrand. Medicina & Laboratorio. 2023; 27(2): p. 175-182.
29. Martínez M, López B, Parra I. Pruebas de laboratorio para la evaluación de la función de las plaquetas. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab. 2015; 62(4).
30. Medicina-Laboratorio. Agregación plaquetaria, ADP (Inhibidores del receptor P2y). ABC del Laboratorio. 2017; 23(3-4).
31. Sainz S, Basile G, Manino F, Pérez C. Fisiología placentaria, agregometría plaquetaria y su utilidad clínica. [Online].; 2019. Acceso 24 de Julio de 2024. Disponible en: https://revistabioreview.com/archivos/95_Julio2019.pdf.

32. Palma V, Revilla N, Sánchez A, Zamora A, Rodríguez A, Marín A, et al. Inherited Platelet Disorders: An Updated Overview. *International Journal of Molecular Sciences*. Abril; 22(21-45). DOI: [10.3390/ijms22094521](https://doi.org/10.3390/ijms22094521)
33. Martínez L, Hernández A, Arango A. Trastornos plaquetarios hereditarios poco frecuentes: patología molecular y aspectos diagnósticos. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*. 2021; 37(1).
34. Fiesco M, Monsivais A, Rodríguez A, Frias S, García B. Síndromes de falla medular hereditarios: etiología, fisiopatología, diagnóstico y tratamiento. *Acta Pediatra Mex*. 2021; 42(4).
35. Rivera J, Palma V, Vicente V, Lozano M. Trastornos plaquetarios congénitos: ayer y hoy. *HEMATOLOGÍA XIII Congreso del Grupo CAHT*. 2018; 10 (Extraordinario).
36. Stufano F, Baronciani L, Peyvandi F. Diagnóstico de la enfermedad de Von Willebrand. [Online]; 2017. Acceso 29 de enero de 2024. Disponible en: <https://www1.wfh.org/publications/files/pdf-1694.pdf>.
37. Donato H. Trombocitopenia neonatal: Revisión. I. Definiciones, diagnóstico diferencial, causas, trombocitopenias inmunes. *Arch Argent Pediatra*. 2021; 119(3).
38. Soler G, Aquino S, Bencomo A. Trombocitopenia inducida por fármacos. *Revista Cubana de Hematol, Inmunol y Hemoterapia*. 2017; 33(3).
39. Caveroa T, Praga M. Síndrome Hemolítico Urémico. [Online]; 2021. Acceso 29 de Enero de 2024. Disponible en: <https://www.nefrologiaaldia.org/es-articulo-sindrome-hemolitico-uremico-216>.
40. Nieto C, Cruz O, Martínez, Álvarez L, Cruz Y, Cruz M. Evaluación preoperatoria de la hemostasia en cirugía mayor electiva. *Revista Mexicana de Anestesiología*. 2023; 46(2).
41. Campo M, Hernández J, Gato Y, Valdés C, Fortún A. Evaluación de la hemostasia en niños con Síndrome de Ehlers-Danlos tipo III. *Revista Cubana Hematología, Inmunología y Hemoterapia*. 2014; 30(2).
42. Mora J, Ovalle A, Agosto C, López V, Romero P, Beltrán A. Perfil de Autoanticuerpos en Adultos con Trombocitopenia Inmune Primaria en una Institución de Bogotá. *Revista Cuarzo*. 2019; 25(1).

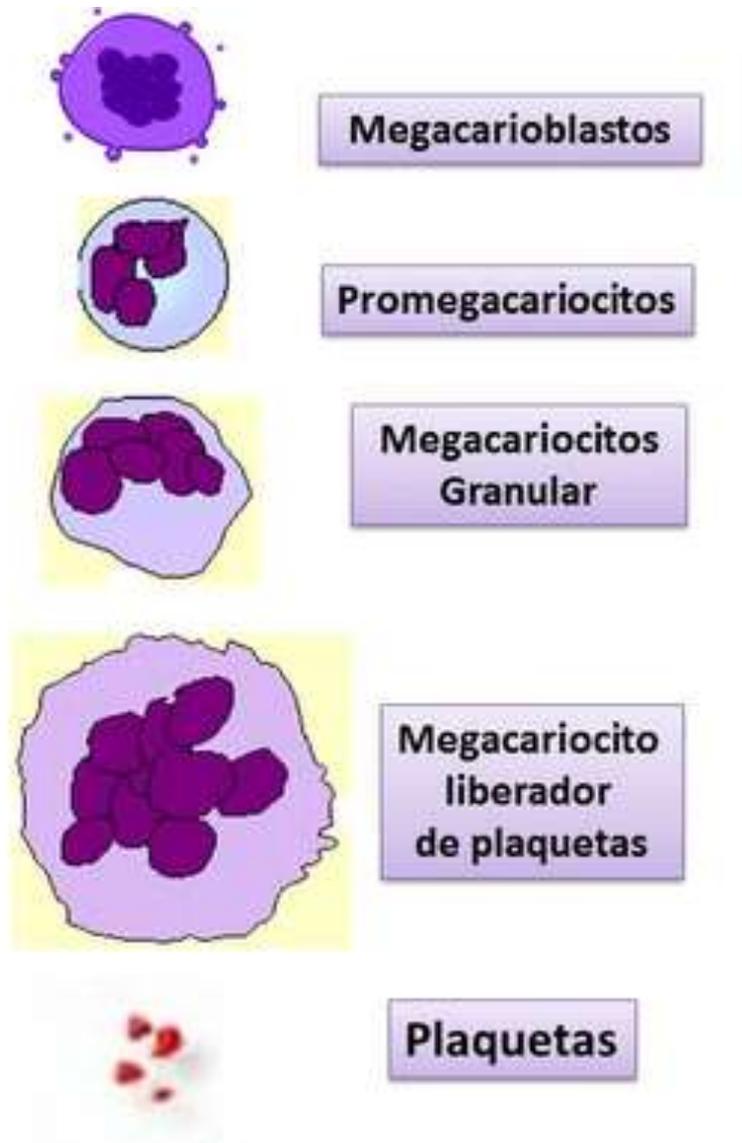
43. García L, Muñoz. A , Montiel A, Barragán G , Bejarano R, García M, et al. Análisis de 200 casos clínicos de púrpura trombocitopénica idiopática. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*. 2014; 52(3).
44. Rodríguez L, Castillo D, Tejeda M, Zamora Y, Cabrera Y, Fonseca C. Frecuencia del síndrome de plaquetas pegajosas en pacientes con pérdidas fetales recurrentes. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*. 2014; 30(4).
45. Mendoza Y. Estudio de tres pruebas de función plaquetaria en adultos jóvenes residentes en una ciudad de gran altitud (Cusco, 3399 msnm). *Anales de la Facultad de Medicina*. 2019; 80(2).
46. Heller P, Oyarzún M, Baroni M. Feno-genotipificación de trombocitopenias hereditarias: nuestra experiencia en 50 familias. *HEMATOLOGÍA*. 2019; 24(3).
47. Mesa L, Castañeda M, Montero M, Moreda X, Jiménez M. Platelet aggregation study using different agonists. Reference values. *Revista Cubana de Medicina*. 2017; 56(1).
48. González O, Arpa A. Caracterización clínica del brote epidémico de dengue en el Hospital Militar Central "Luis Díaz Soto". *Revista Cubana de Medicina Militar*. 2015; 44(4).
49. Gutiérrez C, Palomares A, Soto L, Colunga P, Pérez J, Zambrano M, et al. Dengue durante el embarazo, menor incidencia de trombocitopenia que en la población general. *Revista. Salud Pública*. 2019; 21(5). DOI: <https://doi.org/10.15446/rsap.V21n5.76916>.
50. Hernández E, Zavala C, Viveros M, Ochoa Á, Martínez C, Reyes E. Determinación de los multímeros del factor Von Willebrand en población mexicana. *Cirugía y Cirujanos*. 2014; 82(6).
51. Wieland I, Diekmann F, Carlens J, Hinze L, Lambeck K, Jack T, et al. Acquired von Willebrand syndrome (AVWS) type 2, characterized by decreased high molecular weight multimers, is common in children with severe pulmonary hypertension (PH). *Frontiers in Pediatrics*. 2022; 10. DOI: [10.3389/fped.2022.1012738](https://doi.org/10.3389/fped.2022.1012738)

52. Regueiro A, Fariña S, Rujido S, Gómez G, Fernández M. Síndrome de plaquetas grises, algo más que un trastorno hemorrágico. *Anales de Pediatría*. 2022; 97(4). DOI: [10.1016/j.anpedi.2022.04.014](https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2022.04.014).
53. Rodríguez B, Díaz L, Santa M. Trombocitopenia con ausencia de radios. Presentación de un caso. *Revista Finlay*. 2019; 9(1).
54. Conte G, López M, Alarcón P. Trombocitopenia hereditaria relacionada a gen MYH-9: Primera familia reportada en Chile con diagnóstico molecular. Caso clínico. *Revista médica de Chile*. 2018; 146(9). DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/s0034-98872018000901074>.
55. Aldana A, Aldana A, Aldana A, Martínez R. Trombocitopenia inmune primaria aguda presentación clínica y manejo en pacientes pediátricos, Hospital Mario Catarino Rivas. *Acta Pediátrica Hondureña*. 2017; 8(1).
56. Pinilla A, Huarte R, Magallón A, Cazorla L. Trombocitopenia asociada a ceftarolina en combinación con daptomicina: a propósito de dos casos. *Revista de la OFIL*. 2023; 33(2).
57. Bueno M, López A, Urbano M, Martínez A, Remezal M, Martínez J. Trombocitopenia inducida por tamoxifeno y letrozol. *Revista chilena de obstetricia y ginecología*. 2017; 82(3). DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/s0717-75262017000300304>.
58. Martínez E, García C, Goñi M, Cuevas B. Trombocitopenia aloimmune del feto y el neonato: a propósito de 2 casos. *Revista Electrónica de Biomedicina*. 2014; 3(33).
59. Tirupathi K, Swarnkar K, Vagha J. Study of risk factors of neonatal thrombocytopenia. *International Journal of Contemporary Pediatrics*. 2017; 4(1). DOI: <https://doi.org/10.18203/2349-3291.ijcp20164603>.
60. Saldaña C, Roque J, Saldaña S, De la Cruz J. Trombocitopenia como indicador predictivo de cierre deficitario de ductus arterioso en prematuros del Instituto Nacional Materno Perinatal. *Rev Perú Investig Matern Perinat*. 2019; 8(2).
61. Martínez L, Hernández A, Roldan M, HL, Villegas J, Calle M, et al. Caracterización de pacientes con trombocitopenia en una institución de tercer nivel de complejidad en Medellín, Colombia. *Archivos de Medicina*. 2022; 22(2).

62. Rodríguez C, Sanz M, Martínez C, Murillo L, Calvo C, García J, et al. Trombocitopenia inmune primaria: experiencia de una consulta especializada. *Anales de Pediatría*. 2020; 93(1).
63. Romero A, Agramonte M, Ortiz A, Tamayo M, Felinciano V, Suárez J, et al. Síndrome de Evans Fisher asociado con esclerodermia. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*. 2014; 30(1).
64. Ferrer E, Wilson T, Guerrero J, Moya N. Dengue y factores teratogénicos. Reporte de un paciente. *Correo Científico Médico*. 2017; 21(3).
65. Alayón C, Morfa F, Rodríguez Y, León R, Nodal N. Manifestaciones bucales y cutáneas de la púrpura trombocitopénica inmunológica: reporte de un caso. *Revista Archivo Médico de Camagüey*. 2018; 22(1).
66. Ghariani I, Braham N, Veyradier A, Bekir L. Síndrome de Von Willebrand adquirido: reporte de cinco casos y revisión de la literatura. *Investigación de trombosis*. 2022; 218. DOI: [10.1016/j.thromres.2022.08.025](https://doi.org/10.1016/j.thromres.2022.08.025).
67. Esquivel D, Franco E, González G, Correa D. Síndrome de plaquetas pegajosas. Reporte de 2 casos en el servicio de Cirugía Oral y Maxilofacial Pediátrica de la Fundación Hospital de la Misericordia. *Revista Española de Cirugía Oral y Maxilofacial*. 2016; 38(3). DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.maxilo.2014.06.010>.
68. Toro M, Aguilar A. Enfermedad de Von Willebrand tipo III en una paciente obstétrica. *Universitas Medica*. 2019; 60(4). DOI: <https://doi.org/10.11144/Javeriana.umed60-4.vonw>
69. Martín M, Partida A. Enfermedad de Von Willebrand tipo 2A y parto. A propósito de un caso y parto. A propósito de un caso. *Matronas Profesión*. 2018; 19(2).

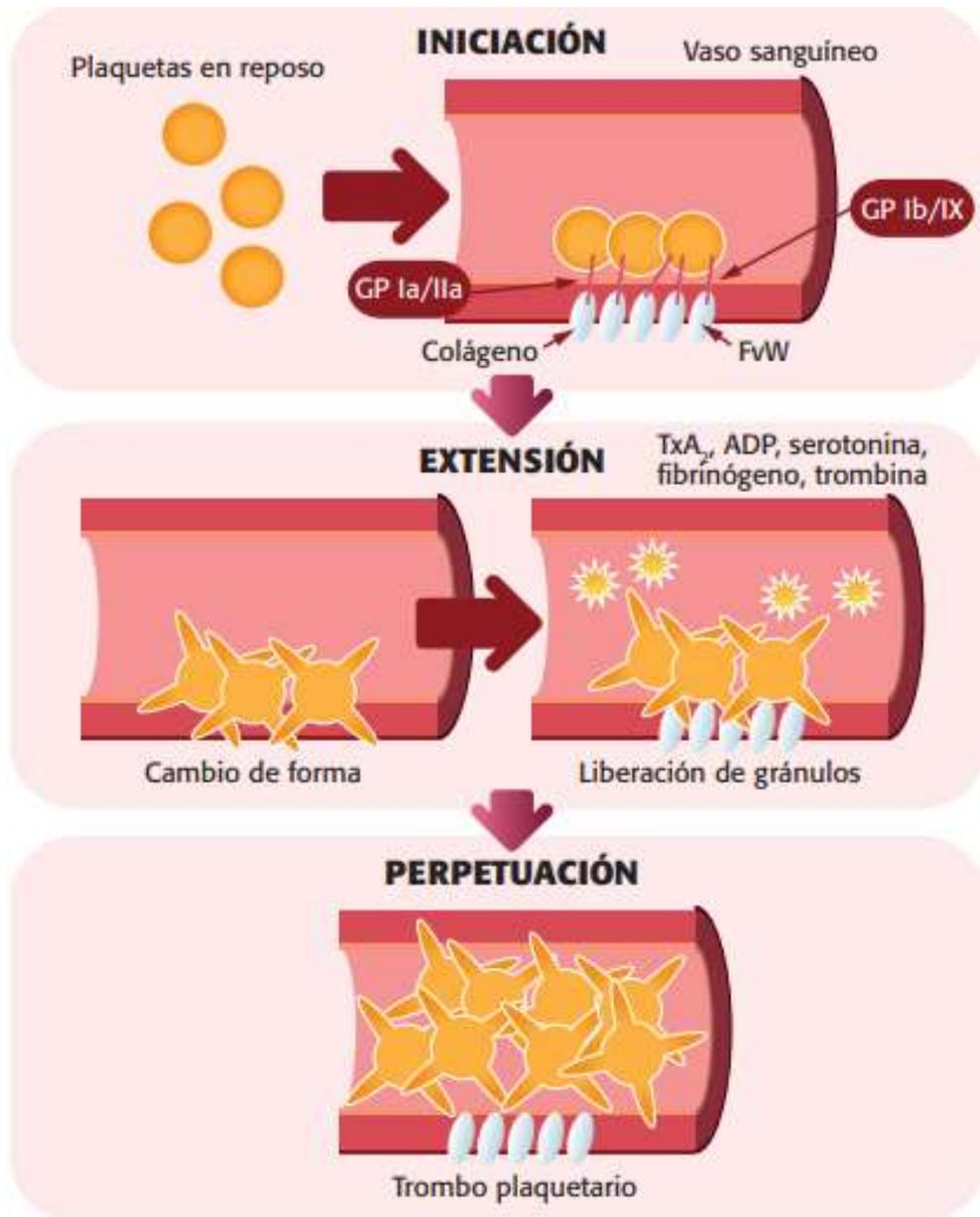
ANEXOS

Anexo 1. Trombopoyesis



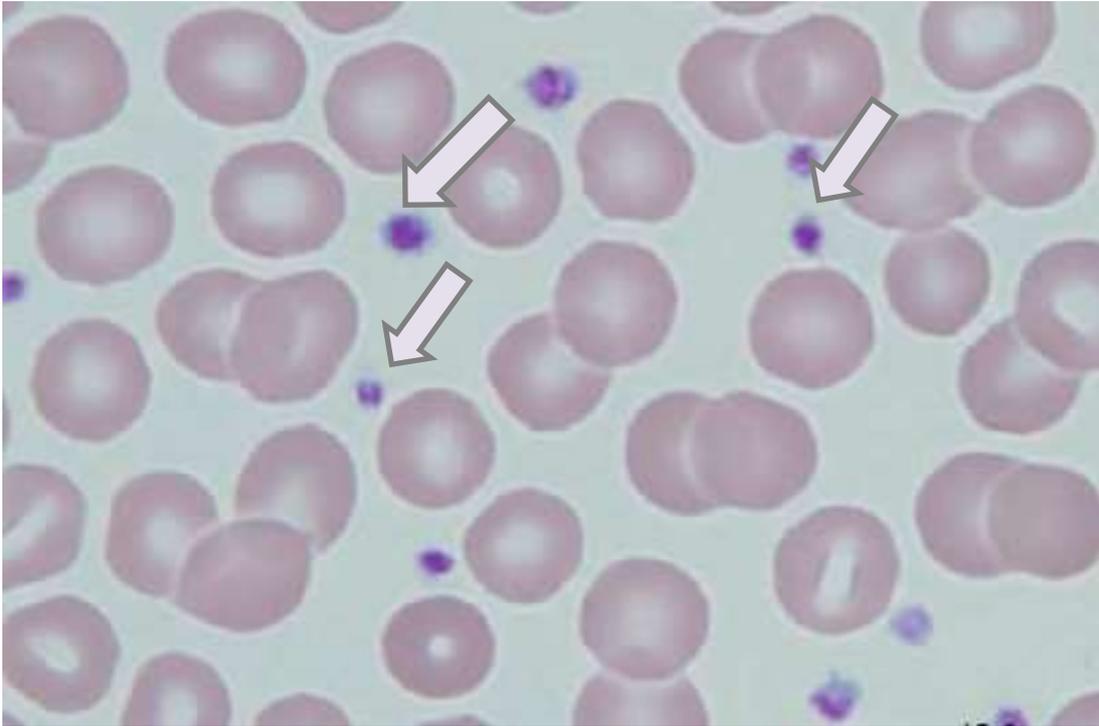
Fuente: <https://morfofisiologiadelasangre.weebly.com/formacioacuten.html>

Anexo 2. Fisiología de la hemostasia primaria



Fuente: <https://filadd.com/doc/fisiologia-de-la-hemostasia-pdf-fisiologia-y>

Anexo 3. Presencia de plaquetas en extendido sanguíneo teñido con Giemsa



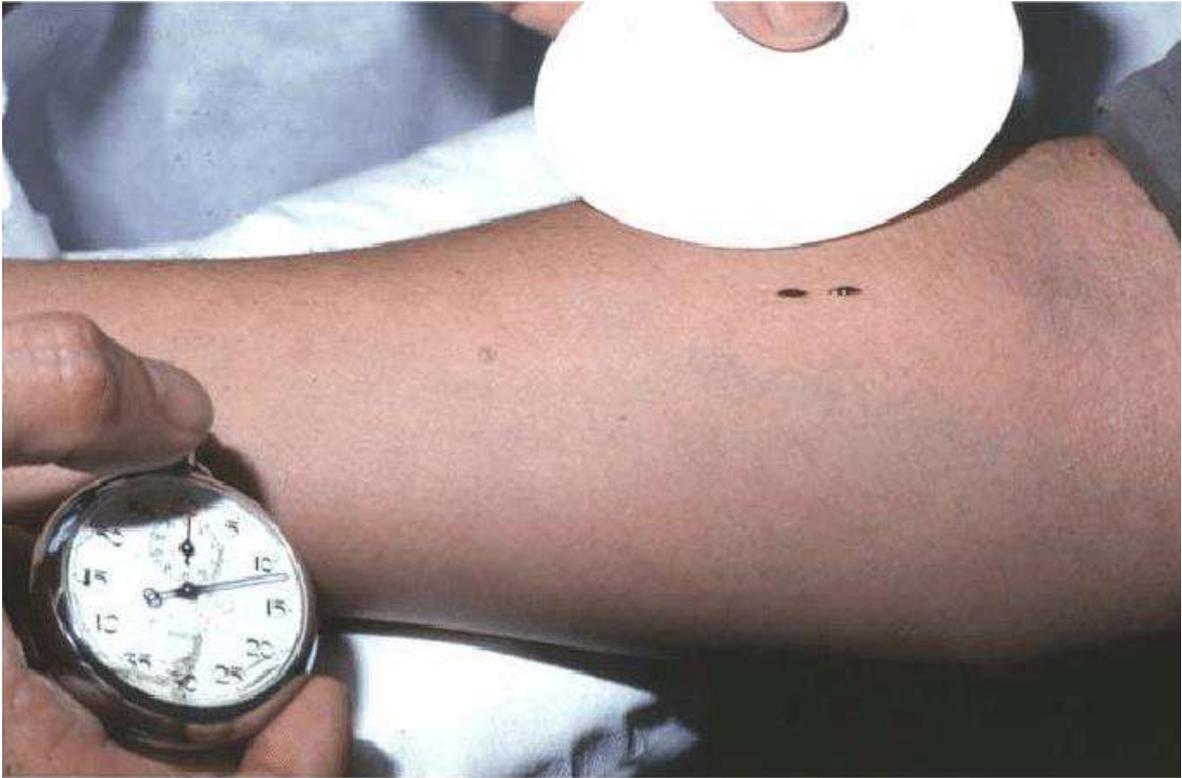
Fuente: <https://laboratoriohematologiadefelipe.blogspot.com/2015/08/recuento-de-plaquetas.html>

Anexo 4. Tiempo de sangría-Método de Duke



Fuente: <https://hematologiavanessalopez.wordpress.com/2015/04/15/practica-34-metodo-de-duke-tiempo-de-sangria/>

Anexo 5. Tiempo de Sangría-Método de Ivy



Fuente: <https://issuu.com/annaezquivel4/docs/manuaall/s/14178356>

Anexo 6. Prueba de resistencia o fragilidad capilar (prueba de Rumpel-Leede)



Fuente: <https://practicashematologiaycitologia.wordpress.com/2015/05/08/prueba-de-rumpel-leede/>

Anexo 7. Prueba de retracción del coágulo (método de MacFarlane)



Fuente: <https://andraperezde.blogspot.com/2014/10/retraccion-del-coagulo-objetivo-termino.html>

Anexo 8. Inserto para la valoración del cofactor de ristocetina

Kit Para Valoración del Co-factor de la Ristocetina



laboratorios de sanofi

USO PREVISTO

El kit para valoración del co-factor de la ristocetina de abp está destinado a la cuantificación de la actividad del factor von Willebrand (vWF) mediante la valoración analizada de la actividad del co-factor de la ristocetina.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El kit para valoración del co-factor de la ristocetina de abp, mide la capacidad del plasma de un paciente de aglutinar plaquetas fijas en formalina en presencia de ristocetina. Se evalúan los plasmas de pacientes en presencia de plaquetas fijas en formalina y ristocetina para determinar el índice de cambio en la aglutinación de plaquetas. Los resultados pueden interpolarse con una curva estándar para determinar la actividad del co-factor de la ristocetina.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

Pipetas para 500 μ L, 200 μ L y 25 μ L.

Agregómetro con registrador gráfico o con software para trazado.

Cubetas de agregómetro.

Tubos de plástico para la dilución de las muestras de plasma estándar y de pacientes.

PRESENTACIÓN

El kit para valoración del co-factor de la ristocetina de abp se presenta de la siguiente manera:

4 x 5 mL de plaquetas humanas fijas en formalina.

2 x 1 mL de ristocetina liofilizada 10 mg/mL.

2 x 1,0 mL de estándar de referencia derivado del plasma humano normal - liofilizado.

2 x 0,5 mL de control anómalo derivado del plasma humano.

2 x 25 mL de solución salina tamponada con Tris (TBS) con conservantes y estabilizantes.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Plaquetas liofilizadas

Dejar que los viales se estabilicen a temperatura ambiente antes de su reconstitución. Reconstituir con 5 mL de solución salina tamponada con Tris. Dejar en reposo durante un mínimo de 15 minutos. Mezclar suavemente antes de usar invirtiendo el vial. Almacenar a 2 - 8 °C. Estable durante 56 días una vez reconstituido si se almacena a 2 - 8 °C. Estable durante 7 horas una vez reconstituido si se almacena a temperatura ambiente.

Ristocetina

Dejar que el vial se estabilice a temperatura ambiente antes de usar. Reconstituir con 1 mL de agua de grado reactivo para alcanzar una concentración final de 10 mg/mL. Dejar en reposo durante 15 minutos. Asegurarse de que todas las partículas se hayan disueltas antes de usar. Almacenar a 2 - 8 °C. Cualquier porción que no se utiliza puede ser congelada y almacenada a -20 °C. Estable durante 14 días a -20 °C.

Estándar de referencia

Dejar que el vial se estabilice a temperatura ambiente antes de su reconstitución. Reconstituir con 1,0 mL de agua de grado reactivo. Dejar en reposo durante 10 - 15 minutos, rotando suavemente de manera esporádica. Asegurarse de que todas las partículas se disuelven antes de usar. Almacenar a 2 - 8 °C. Estable hasta la fecha de vencimiento en la etiqueta del vial. Estable durante 7 horas una vez reconstituido si se almacena a temperatura ambiente.

Plasma anómalo de pacientes control

Dejar que el vial se estabilice a temperatura ambiente antes de su reconstitución. Reconstituir con 0,5 mL de agua de grado reactivo. Dejar en reposo durante 10 - 15 minutos, rotando suavemente de manera esporádica. Asegurarse de que todas las partículas se disuelven antes de usar. Almacenar a 2 - 8 °C. Estable hasta la fecha de vencimiento en la etiqueta del vial. Estable durante 7 horas una vez reconstituido si se almacena a temperatura ambiente.

Solución salina tamponada con Tris

Solución tamponada ya preparada. Contiene ácido de sodio al 0,1% y Trometamol al 0,02%. Almacenar a 2 - 8 °C. Estable hasta la fecha de vencimiento en la etiqueta del vial.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

Solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

Cada unidad de plasma utilizado en este producto ha sido controlada para verificar la presencia de anticuerpos contra el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) de tipo I y II, antígeno de superficie de Hepatitis B y C, dando un resultado negativo.

Sin embargo, no existen pruebas que puedan garantizar fehacientemente que el plasma humano no transmite enfermedades infecciosas. De la misma manera que con todos los materiales de origen humano, este producto se debe tratar como infeccioso y se deben tomar las precauciones necesarias. Descartar el material de desecho de acuerdo con las normas de cada país en particular.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Muestra: La muestra de elección es plasma obtenido de la recogida de sangre completa venosa y citrato de sodio al 3,2% como anticoagulante.

Recogida y preparación de la muestra: Obtener la muestra de sangre venosa mediante punción. Transferir inmediatamente la sangre a un tubo con el anticoagulante adecuado (citrato de sodio al 3,2%) y mezclar bien por inversión. Centrifugar la muestra a 1500 G durante 20 minutos. Sacar el plasma de los tubos dentro de los 60 minutos. Analizar la muestra de plasma dentro de las 4 horas para obtener resultados óptimos o almacenarla congelada a -20 °C por un período máximo de 2 semanas. Evitar la técnica de congelación/descongelación. (Estándar NCCLS H21-A2)

TEST PROCEDURE

Assay calibration

Prepare the standard curve by making serial dilutions of reference plasma in buffer as follows:

Tube	Vol of Buffer	Vol of Reference	%Assigned Reference Value
1	0.3 ml	0.3ml	100
2	0.1 ml	0.3 ml Tube 1	75
3	0.1 ml	0.2 ml Tube 2	50
4	0.2 ml	0.2 ml Tube 3	25

Prepare test plasma dilution by adding 0.1ml Test plasma to 0.1ml TBS in a plastic tube. Mix well.

To prepare a blank needed to set the 100% baseline for each sample cuvette, add 0.10ml of TBS to 0.05ml of reconstituted platelets.

Assay procedure

1. Add 0.2ml reconstituted platelets to an aggregometer cuvette, ensuring stir bar is present.
2. Add 0.025ml Ristocetin to the sample cuvette. Mix well, incubate for 120 seconds.
3. During incubation, set the 100% baseline by using the blank made in section previously. If a 0% baseline is required then TBS is normally used.
4. Begin aggregation by adding 0.025ml 100% reference standard dilution to Ristocetin containing platelets. Observe and record aggregation pattern, ending agglutination at 180 seconds.
5. Repeat steps 1 – 4 for all reference standard dilutions 75%, 50% and 25%.
6. Repeat steps 1 – 4 for patient test sample (1+1 dilution).
7. Abnormal samples (below 40%) should be repeated using undiluted plasma and divided by 2 to obtain higher degree of result precision.

QUALITY CONTROL

Adsorbed von Willebrand control – abnormal is included in the test kit. The Ristocetin Cofactor value of this control has a set range. When assayed as a test plasma and interpolated against assay standard curve, the given result should fall within this range. If the abnormal control does not fall into range, repeat standard curve and control. If control does not fall into range again, this is indicative of reagent deterioration. Contact abp for further assistance.

RESULTS

A. Determination of slope

1. See instrument manufacturer's instructions.

B. Preparation of standard curve from slope values

1. Using log-log graph paper supplied, plot the % reference plasma 100%, 75%, 50% and 25% adjusting actual % to reference plasma ristocetin co-factor activity % level. Plot ristocetin % on x axis and slope value on the y axis.
2. Draw a line of best fit through the four points.

C. Determine Ristocetin Co-factor activity in patient samples

1. From the slope value of the patient plasma, interpolate against line of best fit, extending line to x axis and establishing the level of ristocetin Co-factor activity of the patient. It is also possible to use automated plotting software to determine Ristocetin Co-factor activity levels of patient samples.

EXPECTED VALUES

In general three types of vWD are recognised. In general type I vWD is characterised by reduced levels of all the normal multimers in plasma and platelets. Type II shows an abnormal pattern of plasma multimers with normal or abnormal platelet patterns, and type III have undetectable vWF. Normal results vary between 63% and 96%. In von Willebrand's disease results are generally below 40% and usually below 30%.

LIMITATIONS

Situations such as pregnancy, infusion of commercial Factor VIII concentrates⁴ may fail to reflect accurately von Willebrand's disease. However Ristocetin Co-factor activity has become perhaps the most reliable indicator of von Willebrand's disease. It appears to be the assay most closely related to the biological activity of von Willebrand factor.

RISK AND SAFETY

Harmful contains sodium acids.

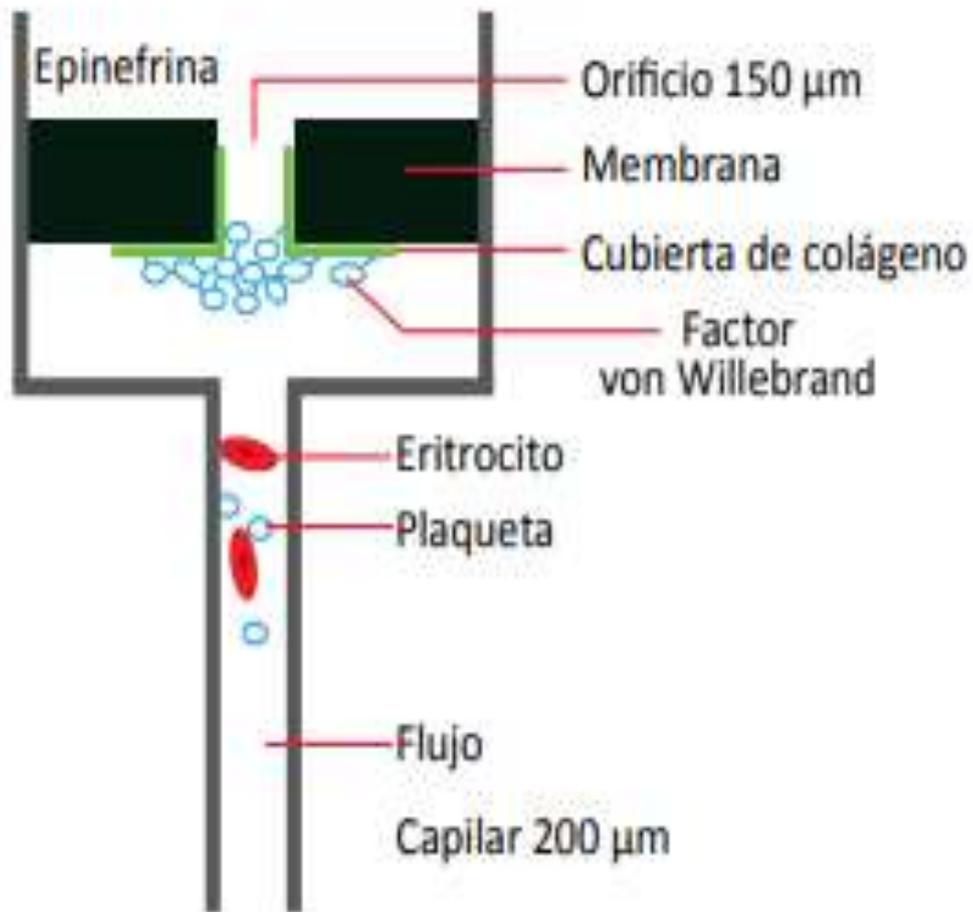
Normal laboratory health and safety procedures should be adhered to.

REFERENCES

1. NCCLS, Collection, transport and processing of blood specimens for coagulation testing and performance of coagulation assays, 2nd edition H21-A3 1991
2. Thompson, J.M., Blood coagulation and haemostasis, a practical guide, third edition, Longman group (P.E) pg. 142, 145, 192, 1985.
3. Blatt, P.M., Brinkhous K.M.M., Culp, H.R., et al., Antithrombotic factor concentrate therapy in von Willebrand's disease, J Am Med Assn, 236:2770-2772, 1976.

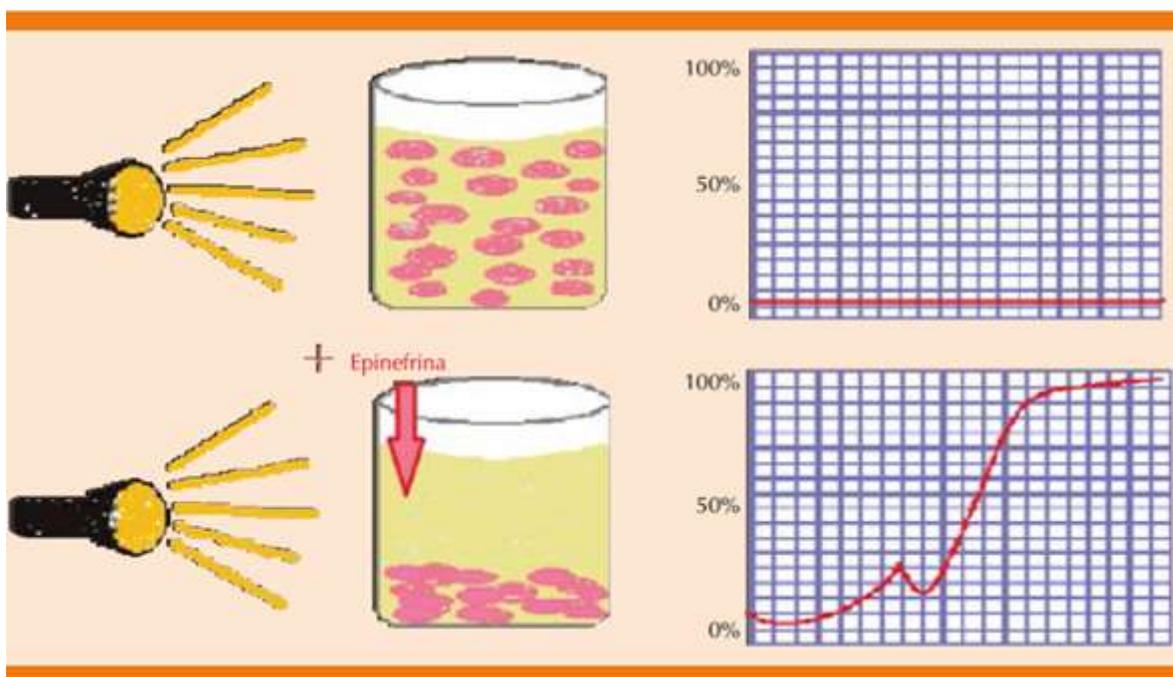
Fuente: <https://www.abpcorp.com/wp-content/uploads/2016/03/Ristocetin-Co-Factor-Assay-Kit-Package-Insert-ref.-ABP-RCOF-LIT-Rev-0-Feb-11.pdf>

Anexo 9. Analizador de la función plaquetaria o PFA-100



Fuente: <https://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2013/myl1311-12b.pdf>

Anexo 10. Esquema de la agregación plaquetaria en plasma rico en plaquetas



Fuente: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0186-48662018000200007

Anexo 11. Artículos seleccionados

Nº	Año	Autor	Bases de datos Científicas	Título
1	2023	Nieto C, et al.	Medigraphic	Evaluación preoperatoria de la hemostasia en cirugía mayor electiva.
2	2014	Campo M, et al.	Scielo	Evaluación de la hemostasia en niños con Síndrome de Ehlers-Danlos tipo III.
3	2019	Mora J, et al.	Science Direct	Perfil de Autoanticuerpos en Adultos con Trombocitopenia Inmune Primaria en una Institución de Bogotá.
4	2014	García L, et al.	Medigraphic	Análisis de 200 casos clínicos de púrpura trombocitopénica idiopática. Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social.
5	2014	Rodríguez L, et al.	Scielo	Frecuencia del síndrome de plaquetas pegajosas en pacientes con pérdidas fetales recurrentes.
6	2019	Mendoza Y	Science Direct	Estudio de tres pruebas de función plaquetaria en adultos jóvenes residentes en una ciudad de gran altitud (Cusco, 3399 msnm).
7	2019	Heller P, et al	Elsevier	Feno-genotipificación de trombocitopenias hereditarias: nuestra experiencia en 50 familias.
8	2017	Mesa L, et al.	PubMed	Platelet aggregation study using different agonists.
9	2015	González O & Arpa A	Google Académico	Caracterización clínica del brote epidémico de dengue en el Hospital Militar Central "Luis Díaz Soto".
10	2019	Gutiérrez C, et al.	Google Académico	Dengue durante el embarazo, menor incidencia de trombocitopenia que en la población general.

11	2014	Hernández E, et al.	Google Académico	Determinación de los multímeros del factor Von Willebrand en población mexicana. Cirugía y Cirujanos.
12	2022	Wieland I, et al.	PubMed	Acquired von Willebrand syndrome (AVWS) type 2, characterized by decreased high molecular weight multimers, is common in children with severe pulmonary hypertension.
13	2022	Regueiro A, et al.	Medigraphic	Síndrome de plaquetas grises, algo más que un trastorno hemorrágico.
14	2019	Rodríguez B, Díaz L, Santa M.	Scielo	Trombocitopenia con ausencia de radios. Presentación de un caso.
15	2018	Conte G, López M, Alarcón P	Scielo	Trombocitopenia hereditaria relacionada a gen MYH-9: Primera familia reportada en Chile con diagnóstico molecular.
16	2018	Aldana A, et al	Scielo	Trombocitopenia inmune primaria aguda presentación clínica y manejo en pacientes pediátricos.
17	2023	Pinilla A, et al.	Google Académico	Trombocitopenia asociada a ceftarolina en combinación con daptomicina.
18	2017	Bueno M, et al.	Scielo	Trombocitopenia inducida por tamoxifeno y letrozol. Revista chilena de obstetricia y ginecología.
19	2014	Martínez E, et al.	Scielo	Trombocitopenia aloimmune del feto y el neonato.
20	2017	Tirupathi K, Swarnkar K, Vagha J	PubMed	Study of risk factors of neonatal thrombocytopenia. International Journal of Contemporary.

21	2019	Saldaña C, et al.	Google Académico	Trombocitopenia como indicador predictivo de cierre deficitario de ductus arterioso en prematuros del Instituto Nacional Materno Perinatal.
22	2022	Martínez L, et al	Scielo	Caracterización de pacientes con trombocitopenia en una institución de tercer nivel de complejidad en Medellín.
23	2020	Rodríguez C, et al.	Scielo	Trombocitopenia inmune primaria: experiencia de una consulta especializada.
24	2014	Romero A, et al.	Medigraphic	Síndrome de Evans Fisher asociado con esclerodermia.
25	2017	Ferrer E, et al.	Scielo	Dengue y factores teratogénicos. Reporte de un paciente.
26	2018	Alayón C, et al.	Google Académico	Manifestaciones bucales y cutáneas de la púrpura trombocitopénica inmunológica.
27	2018	Ghariani I, et al.	Google Académico	Síndrome de Von Willebrand adquirido: reporte de cinco casos y revisión de la literatura.
28	2016	Esquivel D, et al.	Elsevier	Síndrome de plaquetas pegajosas. Reporte de 2 casos en el servicio de Cirugía Oral y Maxilofacial Pediátrica de la Fundación Hospital de la Misericordia.
29	2019	Toro M & Aguilar A	PubMed	Enfermedad de Von Willebrand tipo III en una paciente obstétrica.
30	2018	Martín M & Partida A	Scielo	Enfermedad de Von Willebrand tipo 2A y parto. A propósito de un caso y parto.