



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

Informe final de investigación previo a la obtención del título de Licenciado en Ciencias de la Salud en Laboratorio Clínico e Histopatológico

TRABAJO DE TITULACIÓN

Título: Aporte de las pruebas de coagulación para el diagnóstico de Hemofilia en niños y adolescentes

Autor:

Carlos Alberto Mora Labanda

Tutora:

Msc. Paola Monar Basantes

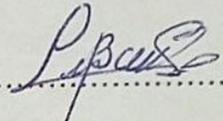
Riobamba - Ecuador

Año 2021

REVISIÓN DEL TRIBUNAL

Los miembros del tribunal de graduación del proyecto de investigación de título: Aporte de las pruebas de coagulación para el diagnóstico de Hemofilia en niños y adolescentes, dirigido por la Mgs. Paola Monar Basantes, una vez escuchada la defensa oral y revisado el informe final escrito del proyecto de investigación con fines de graduación en el cual se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remite la presente para uso y custodia en la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Salud de la UNACH. Para constancia de lo expuesto firman:

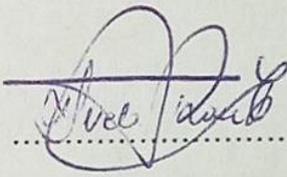
Mgs. Aida Mercedes Balladares Saltos
Presidente del Tribunal



.....

Firma

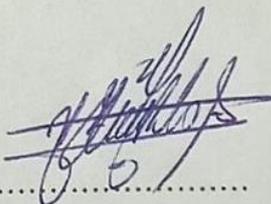
Mgs. Yisela Ramos Campi
Miembro del Tribunal



.....

Firma

Mgs. Elena Brito Sanaguano
Miembro del Tribunal



.....

Firma

DECLARACIÓN EXPRESA DE TUTORÍA

Yo, Mgs. Paola Monar Basantes, docentes de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico en calidad de Tutora del Proyecto de investigación titulado: Aporte de las pruebas de coagulación para el diagnóstico de Hemofilia en niños y adolescentes, egresado de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico de la Facultad Ciencias de la Salud, luego de haber realizado las debidas correcciones, certifico que se encuentra apto para la defensa pública del proyecto. Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad facultando a los interesados en hacer uso del presente para los trámites correspondientes.



.....
Mgs. Paola Monar Basantes

Docente de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

Yo Carlos Alberto Mora Labanda con CI: 1105950164, soy responsable de las ideas, criterios, pensamientos y resultados expresados en el presente trabajo de investigación y los de los derechos de autoría pertenecen a la prestigiosa Universidad Nacional de Chimborazo.



Carlos Alberto Mora Labanda
CI: 1105950164

AGRADECIMIENTO

Al finalizar este trabajo hago propicia la ocasión para agradecer a Dios por ser mi guía y acompañarme en el transcurso de mi vida, brindándome paciencia y sabiduría para culminar con éxito mi meta propuesta, a mis apreciados Padres por ser el pilar fundamental y haberme apoyado incondicionalmente, quienes con su ejemplo de trabajo y honradez me motivaron a cumplir un sueño más. A mi docente guía Mgs. Paola Monar Basantes por haberme orientado, no solo en la elaboración de este trabajo de titulación, sino a lo largo de mi carrera universitaria.

A la Universidad Nacional de Chimborazo por ser la sede de todo el conocimiento adquirido en estos años de preparación académica, a mis estimados docentes que con su conocimiento y experiencia me guiaron por el camino del saber y ser una persona útil a mi familia y la sociedad.

Carlos Alberto Mora Labanda

DEDICATORIA

Con el afecto y cariño más grande, dedico el presente trabajo de investigación, fruto de grandes esfuerzos y sacrificios a los dueños y autores de mi existencia, Dios y mis queridos padres, quienes en todo momento han sido fuente de inspiración para luchar contra las adversidades que se presentaron en el camino, a mis familiares y amigos especiales, quienes me brindaron su apoyo incondicional, afecto y comprensión permanente, para que mis sueños se lleguen a cristalizar.

Carlos Alberto Mora Labanda

ÍNDICE

RESUMEN	IX
ABSTRAC	X
CAPITULO I.	1
INTRODUCCIÓN	1
Hemofilia.....	5
Hemofilia A.....	5
Hemofilia B.....	5
Caracterización fenotípica.....	6
El factor VIII.....	6
Estructura del Factor VIII	6
Síntesis del factor VIII	7
Alteraciones genéticas del factor VIII.....	7
El factor IX.....	7
Estructura del factor IX.....	8
Síntesis del factor IX.....	8
Alteraciones genéticas del factor IX	8
Portadoras de la hemofilia A y B	9
Tipos de personas portadoras de hemofilia	9
Síntomas hemorrágicos	9
Prueba del tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPa)	10
Tiempo de protrombina (TP).....	11
Tiempo de trombina (TT).....	11
El fibrinógeno.....	12
CAPITULO II.	14
METODOLOGÍA	14
Tipo de investigación	14
Población.....	14
Muestra.....	14
Criterios de inclusión	15
Criterios de exclusión.....	15
Método de estudio	15
Técnicas y procedimientos	15
Procesamiento estadístico	16

Consideraciones éticas	16
Diagrama de flujo para la búsqueda bibliográfica y selección de información.....	17
CAPITULO III.	18
DESARROLLO.....	18
Características generales de las pruebas de coagulación.....	18
Tipos de hemofilia presentes en niños y adolescentes.....	22
Diagnóstico diferencial de la hemofilia A y B.....	26
Tratamiento según el sitio de la hemofilia	28
CONCLUSIONES	30
BIBLIOGRAFÍA:.....	31

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características generales de las pruebas de coagulación utilizadas para el diagnóstico de hemofilia.....	19
Tabla 2. Tipos de hemofilia presentes en niños y adolescentes.	24
Tabla 3. Diagnóstico diferencial de deficiencia del FVIII y IX	27
Tabla 4. Tratamiento según el sitio de la hemorragia.....	28

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Efectos de la hemofilia	40
Anexo 2. Algoritmo para el estudio del paciente con hemorragia	41
Anexo 3. Datos generales del porcentaje de hemofilia en el mundo.	42
Anexo 4. Tipos de hemofilia y su severidad	42
Anexo 5. Inserto Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPA)	43
Anexo 6. Inserto Tiempo de protrombina (TP).....	44
Anexo 7. Inserto Tiempo de trombina (TT)	45

RESUMEN

La hemofilia es un trastorno de la coagulación, su origen es genético ligado al cromosoma X, en donde se encuentran alterados los factores VIII y IX de la coagulación, dependiendo del factor alterado se conoce como hemofilia A y B. La prevalencia de la hemofilia A se estima en 1 de cada 5.000 a 7.000 varones nacidos vivos, y la hemofilia B se estima en 1 de cada 40.000 a 60.000 nacimientos de varones. Esta investigación se realizó bajo un diseño documental bibliográfico de nivel descriptivo, no experimental. El objetivo de esta revisión bibliográfica fue relacionar el aporte de las pruebas de coagulación que ayudan al diagnóstico de hemofilia en niños y adolescentes respectivamente, La revisión documental se fundamentó en la búsqueda de publicaciones en diferentes bases de datos como: Proquest, Scielo. PubMed, Index, Google Scholar, Medigraphic, Redalyc, Elsevier, en dichas publicaciones se aplicó los criterios de inclusión y exclusión, donde se seleccionaron 53 artículos para su análisis, correlación e interpretación de las características que presentan las pruebas de coagulación, los tipos más comunes de hemofilia y los valores de referencia.

La hemofilia severa presenta un nivel del factor de coagulación inferior al 1%, moderada con un nivel de 1 a 5% y leve con un nivel entre 5 y 40% del factor de coagulación. La mayoría de las personas que padecen hemofilia presentan prolongada la prueba de tiempo de tromboplastina parcial activada mientras que el tiempo de trombina y protrombina se encuentran dentro de los valores normales.

Palabras claves: Pruebas de coagulación, hemofilia, tiempo de trombina, valores de referencia.

ABSTRAC

Hemophilia is a coagulation disorder, its origin is genetic linked to the X chromosome, where coagulation factors VIII and IX are altered, depending on the altered factor it is known as hemophilia A and B. The prevalence of hemophilia A it is estimated to be 1 in 5,000 to 7,000 male live births, and hemophilia B is estimated to be 1 in 40,000 to 60,000 male births. This research was carried out under a descriptive bibliographic documentary design, not experimental. The objective of this bibliographic review was to relate the contribution of coagulation tests that help diagnose hemophilia in children and adolescents, respectively. The documentary review was based on the search for publications in different databases such as: Proquest, Scielo. PubMed, Index, Google Scholar, Medigraphic, Redalyc, Elsevier, in these publications the inclusion and exclusion criteria were applied, where 53 articles were selected for analysis, correlation and interpretation of the characteristics that coagulation tests present, the most common types common hemophilia and reference values. Severe hemophilia has a coagulation factor level of less than 1%, moderate with a level of 1 to 5%, and mild with a level between 5 and 40% of the coagulation factor. Most people with hemophilia have a prolonged activated partial thromboplastin time test while the thrombin and prothrombin time are within normal values.

Keywords: Coagulation tests, hemophilia, thrombin time, reference values.



Firmado electrónicamente por:

**HUGO
ALONSO
SOLIS**

Reviewed by:

Mgt. Hugo Soli Viteri

ENGLISH PROFESSOR

C.C. 0603450438

CAPITULO I.

INTRODUCCIÓN

La hemostasia es un complejo sistema de reacciones sinérgicas y coordinadas, su finalidad es mantener la sangre fluida en el interior de los vasos sanguíneos, para ello se da un equilibrio entre los factores de procoagulantes y anticoagulantes que permiten que la sangre permanezca líquida⁵⁰. Las pruebas de coagulación evalúan las diferentes vías de coagulación, para valorar la función plaquetaria es fundamental tener en cuenta el número de plaquetas que se obtiene con la realización de la biometría hemática ⁸.

La prueba de protrombina y el tiempo de tromboplastina parcial activa, son las principales pruebas utilizadas para poder evaluar la mayoría de los factores de coagulación, la vía intrínseca de la coagulación es evaluada por el TTPa mientras que la vía extrínseca es evaluada por el TP, estos coinciden con la vía común. Para poder realizar estas pruebas es necesario la obtención de sangre en tubos con citrato de sodio o tubos tapa celeste, que este anticoagulante funciona como un quelante del calcio⁸.

El tiempo de trombina evalúa la conversión del fibrinógeno en fibrina esto se da en la última etapa de la vía común para lo cual se obtiene esta prueba agregando trombina bovina al plasma citratado, el fibrinógeno es una proteína que también forma parte de la cascada de coagulación que puede ser medido por métodos químicos o inmunitarios⁸.

La hemofilia es un trastorno de la coagulación, a la cual tiene un origen genético, con un patrón hereditario recesivo que está ligado al cromosoma X, por cuanto se encuentran alterados los factores de la coagulación VIII y IX ocasionando así un déficit funcional y cuantitativo que se conoce como hemofilia A y B. Las manifestaciones clínicas de estas patologías son similares y únicamente la pueden presentar los hombres ya que las mujeres son portadoras de la enfermedad ¹.

Los incidentes hemorrágicos pueden catalogarse dependiendo de su localización, en aquellos que ponen en riesgo la vida como son los intracraneales, de cuello o gastrointestinales y grave cuando se presenta en articulaciones, músculos o mucosa de boca, nariz o sistema

genitourinario, los sangrados menores como epistaxis y hematomas de tejidos blandos, los cuales se controlan con medios físicos y no alteran la salud del paciente ².

La hemofilia tipo A es una alteración hemorrágica hereditaria relacionada con el cromosoma X, cuya causa es la carencia del factor VIII que provoca principalmente flujos de sangre en los músculos y articulaciones y como resultado produce artropatía y morbilidad grave. El trastorno es raro, afecta a 1 de cada 10000 hombres en el mundo ³.

La hemofilia tipo B es producida por la falta del factor IX plasmático, que se identifica por hemorragias espontaneas o secundarias en respuesta a sucesos traumáticos o quirúrgicos. Es provocada por la alteración en la secuencia de ADN del gen del factor IX, con un tamaño de 32 kilobases con 8 exones y 7 intrones, y este se encuentra ubicado en el cromosoma X. El 65% de los pacientes con hemofilia B pueden poseer variantes sin sentido, por cuanto el 83% de las variantes patogénicas se localizan en regiones exónicas y el 12% en regiones intrónicas ⁴.

Según la Federación Mundial de Hemofilia (FMH) se han documentado casos de hemofilia de todas las razas y etnias, lo cual señala una distribución casi mundial de la misma. La prevalencia de la hemofilia A se estima en 1 cada 5 000 a 7 000 varones nacidos vivos. La prevalencia de la hemofilia B se estima en 1 en 40 000 a 60 000 nacimientos varones. El Informe del Sondeo Mundial Anual 2016, de la FMH abarca datos sobre más de 290000 personas con trastornos de la coagulación: 184 723 personas con hemofilia, 71 648 personas con EvW, y 39 495 personas con trastornos de la coagulación poco comunes ⁷.

Por primera vez se calculó la prevalencia de la hemofilia al nacer como el número de personas nacidas con hemofilia, por cada 100.000 nacimientos masculinos. La prevalencia al nacer por cada 100.000 hombres es de 25 recién nacidos para las severidades de la hemofilia A, 10 para la hemofilia A severa, 5 para las severidades de la hemofilia B y 2 para la hemofilia B severa. Esto nos indica aproximadamente que 1.125.000 hombres padecen de hemofilia en todo el mundo, de la misma manera 418.000 tiene hemofilia grave y la mayoría de los cuales no son diagnosticados de una manera oportuna ⁵.

En Latinoamérica al menos 57.000 personas viven con esta enfermedad conocida como hemofilia, es una dolencia rara cuyo diagnóstico temprano es primordial para garantizar una mejor calidad de vida al paciente mediante tratamientos cada vez más mucho más efectivos. Se cree que 1 de cada 10.000 personas nacen con este padecimiento. De acuerdo con Cruz Ramírez en México se tienen registrados 6.300 pacientes con esta enfermedad ⁶.

Según el Ministerio de Salud Pública en Ecuador la hemofilia es considerada como una enfermedad de baja incidencia y poco conocido en el área médica, tomada en cuenta por pocos especialistas capacitados. Hasta febrero de 2018 existen aproximadamente 763 casos de pacientes con hemofilia tipo A, mientras que 585 pacientes padecen hemofilia tipo B dando un resultado de 1348 pacientes con esta enfermedad⁷.

La coagulación es el resultado que se da en una interacción coordinada de las proteínas sanguíneas, células circulantes, células de la vasculatura y proteínas de la matriz extracelular que se encuentran en la pared de los vasos. Este mecanismo hace difícil su evaluación en el laboratorio por tanto se limita a medir las proteínas de la coagulación circulante y células circulantes, mientras que los otros elementos vasculares no pueden ser medibles ⁸.

Cabe mencionar que el modelo clásico de la cascada de la coagulación y las pruebas de coagulación comunes no manifiestan la complejidad de la hemostasia in vivo por lo que no se pueden caracterizar la verdadera gravedad del fenotipo de la hemofilia A, no obstante, contienen la sensibilidad para poder detectar deficiencia de uno o más factores de coagulación ⁹.

La hemofilia es una enfermedad hemorrágica congénita poco común que requiere un manejo interdisciplinado y complejo, está ligada al cromosoma X, debida al déficit de factor VIII o del factor IX, la hemofilia A es la más frecuente, representa aproximadamente el 85% de los casos y la hemofilia B representa el 15%. En los últimos años se ha observado un incremento de 7% en el diagnóstico de hemofilia, y de acuerdo a los datos de las encuestas anuales de la Federación Mundial de Hemofilia ¹¹.

La prevalencia de hemofilia varia es por ello que existen múltiples razones para que ocurra esta variación en los reportes a nivel mundial, como son: la falta de capacitación diagnóstica, los pacientes no han sido identificados, falta de acceso a la atención médica, falta de recursos económicos, y poca o nula posibilidad de terapia de reemplazo ¹.

Las complicaciones derivadas de esta patología pueden ser incapacitantes y afectar la calidad de vida del paciente de manera significativa, siendo el sangrado articular y la aparición de inhibidores dos de las principales complicaciones que pueden deteriorar gravemente la calidad de vida de los pacientes. Por fortuna, se han logrado grandes avances en los últimos años en el manejo de esta condición y aquellos que la padecen pueden llevar una vida relativamente normal ¹².

Es fundamental contar con un diagnóstico preciso de hemofilia para poder elaborar un plan de tratamiento adecuado, puede considerarse la posibilidad de padecer hemofilia en casos de pacientes con antecedentes de propensión a la aparición de hematomas durante la primera infancia; hemorragias espontáneas. Alrededor de dos tercios de los pacientes presentan antecedentes familiares de hemorragias, el diagnóstico definitivo dependerá de la cuantificación del factor VIII o factor IX ¹².

Las pruebas de tamizaje que se utilizan para identificar la causa potencial de hemofilia se encuentran el tiempo protrombina (TP), tiempo trombotoplastina parcial activada (TTPA), tiempo de trombina (TT) y fibrinógeno ¹³.

La importancia de las pruebas de coagulación se usa para averiguar si la persona tiene un problema con cualquiera de los factores. Si se encuentra un problema con estos factores, es probable que tenga un trastorno hemorrágico, entre estos trastornos hemorrágicos el más común es el de hemofilia que es causada cuando los factores VIII o IX faltan o son defectuosos ¹³.

El aporte de este estudio se enfoca en el análisis, síntesis e interpretación de la información de carácter bibliográfico sobre las pruebas de coagulación utilizadas para el diagnóstico de Hemofilia en niños y adolescentes, ya que es de suma importancia porque nos permite sentar

bases para generar futuras investigaciones en torno al tema, el contenido del presente documento será útil como material de consulta para los estudiantes y profesionales del área.

Hemofilia

La hemofilia es considerada un desorden hemorrágico hereditario y connatural, originado por mutaciones que se dan en el cromosoma X, representado por el decrecimiento o desaparición de la actividad servible de los factores VIII o IX. La hemofilia causa mayor daño a las personas varones del lado materno y en un tercio de los casos nace como efecto de mutaciones espontáneas. La frecuencia de la hemofilia A corresponde a la deficiencia del factor VIII que es de alrededor de 1 por cada 5.000 a 10.000 nacimientos de varones y la de la hemofilia B es la deficiencia del factor IX y se da alrededor de 1 por cada 30.000 a 50.000 nacidos ¹⁴.

Los niños con hemofilia moderada no suelen sangrar si no existe ninguna lesión y pueden tener hemorragias muy duraderas ante operaciones quirúrgicas o lesiones. Mientras que los que tienen hemofilia severa sufren hemorragias de manera frecuente en articulaciones y músculos, pudiendo sangrar hasta una o dos veces por semana sin motivo aparente ¹⁴.

Hemofilia A

Es un trastorno hemorrágico que es poco frecuente y está caracterizado por la presencia de autoanticuerpos contra el factor VIII circulante. Se ha notificado una incidencia de alrededor de 1,5 casos por millón por año. Además se presenta con mayor frecuencia en épocas tardías de la vida, también se han sugerido que estos autoanticuerpos se desarrollan como derivación de una interacción compleja de diversos factores genéticos como ambientales, hasta ahora poco conocidos, que provocan un trastorno de la regulación inmune ¹⁰.

Hemofilia B

En un trastorno hereditario de la coagulación causado por déficit del factor IX, el cual está codificado por el gen F9. Ocurre con una prevalencia de 1 en 30.000 y afecta a todas las culturas; además, es cinco a seis veces menos común que la hemofilia clásica tipo A. La

hemofilia B es una enfermedad recesiva ligada al cromosoma X, de carácter hereditario y en raras ocasiones de aparición esporádica asociada a enfermedades autoinmunes o neoplasias. Debido a su patrón de herencia recesivo ligado al X, se manifiesta clínicamente en los hombres, en tanto que las mujeres son las portadoras, aunque la pueden padecer bajo condiciones muy especiales ¹³.

Caracterización fenotípica

El fenotipo de esta enfermedad es hemorrágico, se visualiza sangrados en diversos lugares de la economía condicionados principalmente por los niveles del factor deficiente. Este trastorno afecta casi en su totalidad a varones y las únicas portadoras son las mujeres, salvo algunas irregularidades en que pueden aparecer mujeres hemofílicas debido a cambios como la inactivación desfavorable del cromosoma X, isodisomía o la concomitancia con un síndrome Turner, entre otras situaciones clínico-genéticas ¹⁵.

El factor VIII

Es una proteína con actividad de cofactor soluble, que recorre unido al factor de von Willebrand, por lo que tiene una mayor vida media. Es activado por la trombina y por el factor Xa. Una vez que se encuentra activado, el factor IX se une con el factor VIII, junto con el Ca⁺ y en presencia de fosfolípidos constituyen el complejo Xasa ¹⁶.

Estructura del Factor VIII

Tiene una estructura deducida a partir de una secuencia de nucleótidos cuenta con seis dominios de tipo A1-A2—B-A3-C1-C2. Muestra una homología aminoacídica de alrededor de un 40% con 5 de los 6 dominios de también cuenta el factor V de la coagulación. El FVIII además es muy sensible al procesamiento proteolítico, la mayoría de las veces circula asociado al factor von Willebrand en forma de dos cadenas una pesada donde se encuentran los dominios A1-A2-B, y otra cadenaligera donde se encuentran los dominios A3-C1-C2, unidas en forma no covalentes mediante la interacción de iones Ca²⁺ y Cu²⁺ ¹⁷.

Síntesis del factor VIII

Se ha demostrado la presencia de mRNA del FVIII en diversos órganos como es el bazo, riñón y páncreas. Sin embargo el órgano por excelencia en producir el FVIII es el hígado específicamente las células sinusoidales y en menor medida los hepatocitos, a pesar de que los órganos como el bazo y el riñón excretan mRNA en cantidades similares por gramo de tejido, el gran tamaño del hígado lo convierte en principal fuente del FVIII ¹⁷.

Una demostración clara se encuentra en que pacientes hemofílicos que son sometidos a trasplante hepático recuperan los niveles de FVIII hasta el valor normal y el promotor del FVIII contiene secuencias características de expresión específica de hepatocitos ¹⁷.

Alteraciones genéticas del factor VIII

La principal alteración que se da por el factor VIII es la hemofilia tipo A la cual se divide en varias categorías:

1. Grandes reordenamientos por la inversión del intrón 22 que se origina de forma mayoritaria en las células germinales masculinas, dada su frecuencia y relevancia clínica, entre un 40 y 45% de la hemofilia A grave esta originada por el fenómeno de la inversión del intrón 22 ¹⁷.
2. Sustituciones sencillas en la base del ADN produciendo un cambio de posición de aminoácidos en la proteína final, cadena peptídica de terminación prematura o defectos en las zonas de acoplamiento ¹⁷.

El factor IX

Es una enzima esencial en los procesos de la hemostasia y su ausencia congénita se traduce clínicamente en tendencia al sangrado (hemofilia B). Tiene dos fuentes potenciales de activación como son el complejo factor VIIa/Factor Tisular y el factor XIa, existe también una glicoproteína plaquetaria con la capacidad de activar este factor ¹⁸.

Estructura del factor IX

El gen que codifica al factor IX de la coagulación se localiza en la banda distal del cromosoma X, concretamente en la porción Xq27. Este gen tiene una extensión de 38 kb y tiene ocho exones y codifica un ARN mensajero de 3 kb que sintetiza al factor IX en forma de una proteína de 415 aminoácidos. El producto definitivo contiene al menos dos regiones significativas dentro de su estructura, una región catalítica, la cual está trazada para su sitio de unión al factor VIII, y una región de ácido gamma-carboxiglutámico (Gla), que requiere un proceso de gammacarboxilación para poder activar al factor IX antes de su unión al factor VIII ¹⁹.

Síntesis del factor IX

Los ocho axones dan un total de 7 dominios funcionales y cada axón codificada un dominio. El exón 1 corresponde al péptido señal, el exón 2 corresponde al pro-péptido y a la región Gla, el exón 3 codifica para una región en específico que es rica en aminoácidos aromáticos y estos sirven de puente entre los dominios adyacentes, el exón 4 da lugar a la región del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (EGF-1), el exón 5 da lugar a la región del factor del crecimiento epidérmico humano (EGF-2), el exón 6 codifica para el péptido de activación y por último los axones 7 y 8 estos corresponden al dominio proteasa o catalítico ¹⁷.

Alteraciones genéticas del factor IX

La hemofilia B es una alteración mutacional muy diversa por lo que cada paciente se debe de secuenciar la totalidad del gen para identificar la causa de su enfermedad. El principal objetivo de estudio es realizar pronósticos fenotípicos establecidos en la experiencia de mutaciones semejantes en varios pacientes, para esto es necesario contar con una base de datos internaciones en la cual se puede encontrar diferentes tipos de mutaciones ¹⁷.

Portadoras de la hemofilia A y B

Una mujer que tenga menos de 40 por ciento de la cantidad estándar de factor de coagulación FVIII y FIX, en la sangre no se diferencia de un hombre con las mismas cantidades de factor de coagulación; esa mujer poseería hemofilia. Algunas portadoras tienen indicios de hemofilia a pesar de que sus cantidades de factor de coagulación son ascendentes al 40%. Una mujer con 40-60% de la cantidad normal de factor de coagulación que experimenta flujos anormales se conoce como portadora sintomática ²⁰.

Tipos de personas portadoras de hemofilia

La portadora obligatoria tiene el gen de la hemofilia el cual heredó de su padre, estas presentan las siguientes características:

- Todas hijas de un padre con hemofilia
- Madres de un hijo con hemofilia y que tienen por lo menos otro familiar con hemofilia
- Madres de un hijo con hemofilia y que tienen un familiar que es portadora conocida del gen de la hemofilia
- Madres de dos o más hijos con hemofilia.

Las portadoras probables son:

- Todas las hijas de una portadora
- Madres de un hijo con hemofilia, pero que no tienen otros familiares con hemofilia
- Hermanas, madres, abuelas maternas, tías, sobrinas y primas de portadoras ²⁰.

Síntomas hemorrágicos

Alrededor de un tercio de las portadoras poseen niveles de factor de coagulación VIII y IX en la sangre mínimos al 60% de lo normal y podrían presentar hemorragias anormales. En la mayoría de los casos, las portadoras experimentan síntomas similares a los vistos en hombres con hemofilia leve, así como algunos específicos de las mujeres, tales como los periodos menstruales abundantes o extensos ²⁰.

Las portadoras sintomáticas y las mujeres con hemofilia:

- Podrían presentar moretones más fácilmente
- Pueden presentar hemorragias prolongadas después de una cirugía.
- Pueden presentar hemorragias graves después de traumatismos
- Periodos menstruales con frecuencia más abundantes y presentan más probabilidades de necesitar un suplemento de hierro o de ser sometidas a una histerectomía.
- Mayor probabilidad de presentar hemorragia posparto después del alumbramiento²⁰.

Prueba del tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPa)

Esta prueba nos ayuda a monitorear los niveles del factor de coagulación I, II, V, VIII, IX, X, XI, XII, que se encuentran en la vía extrínseca y común, así como fármacos antitrombóticos, como la heparina e inhibidores directos de trombina y la detección de anticoagulante lúpico. Es una prueba principal para la determinación de pacientes hemofílicos, es principalmente sensible a los factores II, V, VIII, IX, X, XI, XII y fibrinógeno. Es menos sensible que el TP a deficiencias dentro de la vía común⁵⁰.

El resultado normal va de 25 a 45 segundos; sin embargo, es relevante conocer los valores de referencia que maneja cada uno de los laboratorios. La causa más frecuente de alteración del tiempo de tromboplastina parcial activado es la deficiencia de alguno de los factores de la vía intrínseca, aunque este debe estar con una actividad menor al 40% para modificarlo; la mayor incidencia de déficit es la de factor VIII que corresponde a hemofilia A⁸.

El diagnóstico de la hemofilia A se caracteriza por un TTPa prolongado que no se puede corregir con plasma y tiempo de protrombina normal, este diagnóstico se debe considerar en personas de avanzada edad, embarazadas o posterior aun sangrado excesivo, se confirma el diagnóstico evidenciando un inhibidor del FVIII que puede ser cuantificado por un ensayo de Bethesda, ensayo Nijmegen Bethesda o por ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) con anti-FVIII, se puede considerar alto cuando es mayor de 0.5 BU/mL y bajo cuando es menor de 0.5 BU/mL⁵¹.

Tiempo de protrombina (TP)

El tiempo de protrombina es un proceso de coagulación que se encuentra alargado por el déficit de los factores II, V, VII, X, la mayoría de estos factores son vitamina K dependientes y de síntesis hepática su estudio es útil para la valoración de la función hepática y el control del tratamiento con anticoagulantes, se debe recalcar que el TP no es sensible al déficit de factores como VIII, IX, XI, XII ⁵².

La protrombina se sintetiza en el hígado y para esto la vitamina K es indispensable para poder realizar este proceso. Esta prueba es solicitada ante la existencia de enfermedades de la coagulación como la hemofilia y también forma parte de las pruebas para las exploraciones preoperatorias para poder descartar alguna enfermedad que podría producir alguna complicación grave durante la cirugía ⁵².

El tiempo de protrombina es la medición del lapso que transcurre para que el plasma se coagule y se lo determina por un método estándar denominado Quick que valora la vía extrínseca y sus factores de coagulación como son protrombina, fibrinógeno, factor V, factor VII y factor X, su valor de referencia oscila entre 11,0-13,0 segundos ²⁴.

Para su evaluación, la sangre no debe coagularse por lo cual debe encontrarse con el anticoagulante de citrato de sodio que impide que este proceso suceda, el plasma se enfrenta al factor III o factor tisular tromboplastina, la coagulación se produce por la acción de un factor natural o recombinante incluyendo en esta reacción Ca^{2+} , la manipulación de este conjunto da como respuesta la formación del coagulo de fibrina y por ende su medición. Para poder realizar la prueba de tiempo de trombina se utiliza como muestra el plasma a partir de sangre total citrada sin heparina, EDTA ni oxalato. ²⁴.

Tiempo de trombina (TT)

El tiempo de trombina es el tiempo que tarda en coagular un plasma descalcificado al que se añade trombina cálcica, esta prueba es empleada en alteraciones que afectan a la conversión del fibrinógeno en fibrina, se altera cuando hay un nivel bajo o ausencia de fibrinógenos, se puede alargar el tiempo de trombina cuando hay presencia de inhibidores como la heparina ⁵³.

Esta prueba permite explorar de forma rápida y simple el tiempo para la formación de fibrina. Este indicador se mantiene normal en deficiencias del factor XIII; debe ser determinado antes de cualquier cuantificación analítica. La presencia de una cantidad de trombina determinada en un plasma normal forma un coágulo en un tiempo definido y constante que permite investigar la etapa de fibrinoformación ²¹.

Esta prueba nos permite evaluar la etapa de fibrinoformación, nos permite medir el tiempo de coagulación del plasma citratado cuando se le agrega como reactivo trombina. Es independiente de posibles alteraciones que afecten las vías extrínseca e intrínseca. El valor de referencia por lo general se encuentra entre 13 a 20 segundos, dependiendo de la concentración de trombina utilizada. El tiempo de trombina se prolonga en presencia de niveles bajos de fibrinógeno o por la presencia de disfibrinogenemias ²¹.

El fibrinógeno

El fibrinógeno se sintetiza principalmente en el hígado en una cantidad de 1,7 a 5,0 gramos al día para mantener una concentración normal en la sangre de 2,5 a 3,0 mg/ml. El fibrinógeno es un zimógeno que viaja al torrente sanguíneo y principalmente cuando se requiere la coagulación de la sangre este se activa a través de la cascada de la coagulación donde la trombina hidroliza los fibrinopéptidos AA y BB, el uno consta de 13 y el otro de 14 aminoácidos, que se encuentran en las cadenas a y b del fibrinógeno, lo cual induce la polimerización del fibrinógeno de forma vertical, mientras que la polimerización horizontal causa una unión covalente entre dos moléculas de fibrinógeno por el factor XIIIa para formar un coágulo insoluble de fibrina polimerizado ²⁶.

El nivel de fibrinógeno circulante en plasma se determina por varios métodos, entre estos: el método gravimétrico, el método coagulante de Clauss y el método derivado del Tiempo de Protrombina empleado ampliamente en equipos automatizados, así como por métodos turbidimétricos e inmunológicos ⁸.

Sirve como apoyo en el diagnóstico, sin embargo, si los fragmentos son tan diminutos los resultados pueden ser un falso negativo. Por otra parte, los pacientes con hepatopatía pueden tener un resultado falso positivo. La medición de dímeros D, que se realiza mediante un

anticuerpo monoclonal específico contra las regiones D de la fibrina fragmentada es una prueba más específica y sensible en pacientes con coagulación intravascular diseminada con valores mayor a 500 ng/mL; a mayor nivel mayor grado de afección ⁸.

El laboratorio clínico en el diagnóstico de hemofilia

El diagnóstico de la hemofilia incluye: hemograma con recuento plaquetario y frotis de sangre periférica, TP, TP con INR (evalúa la vía extrínseca y mide la presencia o ausencia de factores de coagulación I, II, VII y X), tiempo de trombina (TT), método de Ivy y angioplastia pulmonar transluminal percutánea (TPTa) el cual identifica mejor los niveles de F8 y F9 ²⁸.

La gravedad de la hemofilia depende de la concentración plasmática de los niveles de factor VIII y factor IX, lo que permitió al comité científico y de normalización de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia (ISTH), su clasificación en las tres formas siguientes:

Severa: en la que el nivel de factor de coagulación es inferior al 1 % de lo normal.

Moderada: el nivel de factor de coagulación es 1-5 % de lo normal.

Leve: nivel del factor del 5-40 % del valor normal ²⁰.

CAPITULO II.

METODOLOGÍA

Tipo de investigación

El presente trabajo se desarrolló bajo el siguiente modelo metodológico:

- **Nivel:** Descriptivo ya que se demostrará la información obtenida en diversas bases de datos bibliográficos revisados.
- **Diseño:** documental no experimental ya que el proceso de la presente investigación se basa en la búsqueda, análisis, e interpretación de los datos e información obtenida a partir de las revisiones bibliográficas.
- **Secuencial temporal:** el presente proyecto es de estudio transversal porque se llevará a cabo en un periodo de tiempo determinado donde se recopilará y seleccionará información destacada para su respectivo análisis, los resultados para esta investigación son obtenidos en un solo momento.
- **Cronología de los hechos:** retrospectivo a partir de las publicaciones sobre el tema, en las diferentes bases de datos bibliográficos, los datos fueron obtenidos por otros autores antes de la realización de esta investigación

Población

La población en estudio quedo conformado por un total de 53 referencias bibliográficas en su totalidad, relacionadas con el tema de investigación sobre el aporte de las pruebas de coagulación para el diagnóstico de Hemofilia publicadas en las bases de datos bibliográficas 3 en ProQuest, 16 en Scielo, 1 en PubMed, 1 en Index, 27 en Google académico, 4 en Medigraphic y 1 en Redalyc.

Muestra

Para la selección de la muestra se escogieron 31 publicaciones que se encontraban registradas en bases de datos científicas confiables: Scielo (8), ProQuest (1), Medigraphic

(4); Redalyc (1); google académico (17); donde incluyen páginas web como (tesis, Rev. Biomédica, OMS, gaceta medica de México, entre otros) además todas las revistas fueron seleccionadas de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión.

Criterios de inclusión

- Libros que se han publicado en los últimos 10 años.
- Artículos científicos que incluyen las pruebas de coagulación para el diagnóstico de Hemofilia en niños y adolescentes.
- Artículos científicos recopilados en las diferentes bases de datos reconocidas.
- Estudios relacionados desde el año 2011 al 2021.

Criterios de exclusión

- Información publicada antes del año 2011.
- Artículos que no se encuentren bien citados o que no son de bases de datos confiables.
- Artículos que no tengan información relacionada al tema de investigación.
- Artículos que contengan información de pruebas de coagulación con relación a otras enfermedades que no sean hemofilia.

Método de estudio

Para el presente trabajo de revisión bibliográfica se utilizó el método teórico ya que se realizó un análisis y síntesis de la información obtenida de diferentes bases de datos científicas sobre las pruebas de coagulación para el diagnóstico de hemofilia en niños y adolescentes.

Técnicas y procedimientos

La técnica utilizada para esta investigación bibliográfica fue la observación directa que se orientó en observar artículos científicos que fueron elaborados y comprobados por otros autores.

Para el procedimiento se empleó la búsqueda de información se estableció los principales parámetros sobre las generalidades de la hemofilia a nivel mundial y nacional, esta investigación se hizo de tipo bibliográfica durante el periodo comprendido entre los años 2011 al 2021. Para lo cual se indago fuentes de datos científicas como: Google académico, Scielo, OMS, ProQuest, medigraphic, redalyc, index. Para ello se tomó en cuenta la información más relevante al tema que se encontraban en el tiempo establecido.

También se tomó en cuenta artículos científicos tanto en inglés como español. Se utilizaron palabras claves en español como: pruebas de coagulación, hemofilia, tiempo de trombina, valores de referencia. Luego de una búsqueda de información sobre la temática con las diferentes palabras claves además se clasifico la información de acuerdo a los criterios de inclusión e exclusión. Se analizó de manera rigurosa cada uno de los artículos, libros relacionados al tema los cuales nos sirvieron de ayuda para la realización del informe final de investigación, se utilizó un total de 31 publicaciones científicas que proporcionaron información para la realización de los resultados, discusión y conclusiones obtenidos durante la investigación.

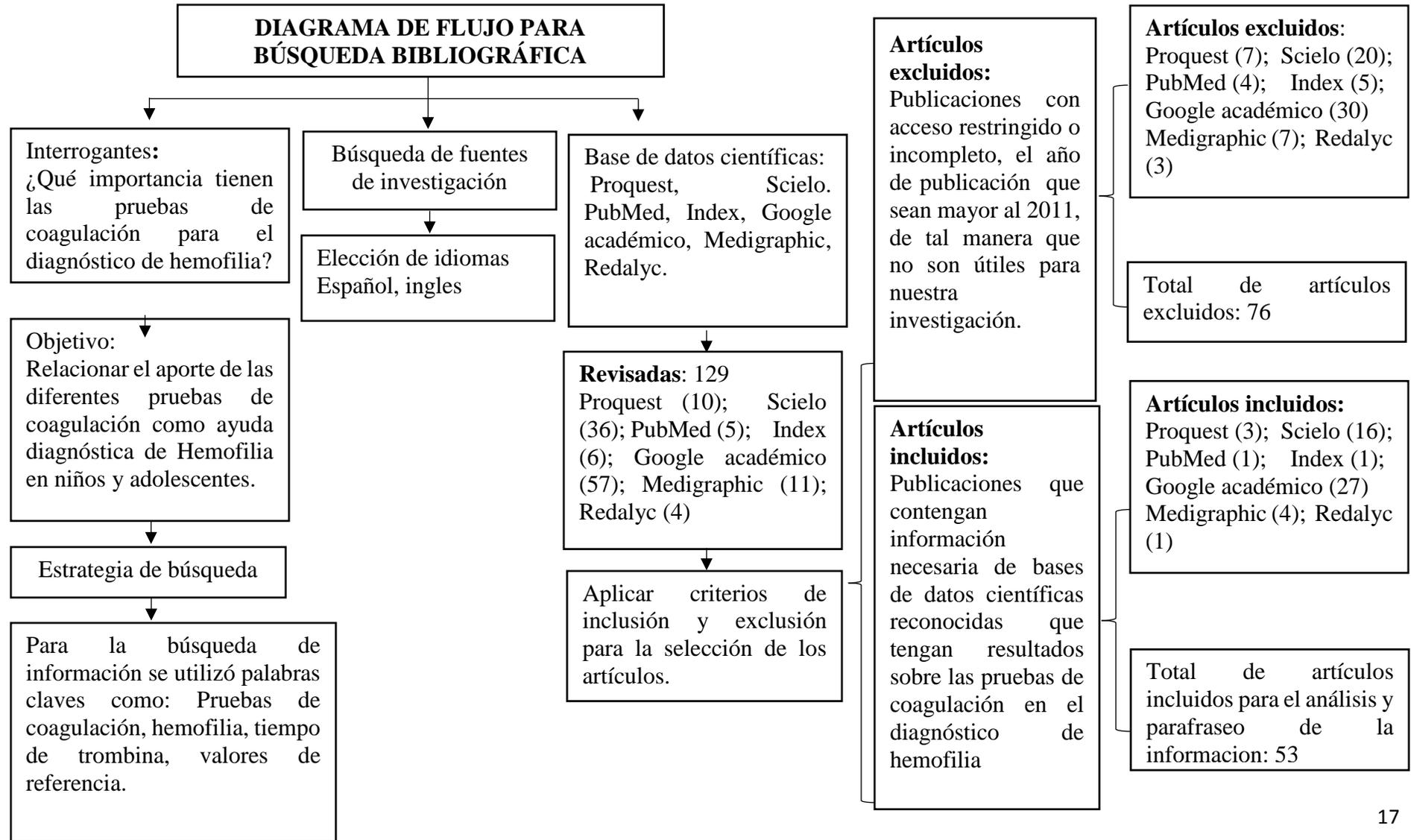
Procesamiento estadístico

La presente investigación es de carácter cualitativo por esta razón se seleccionó información más relevante al tema de investigación para su desarrollo, almacenando información de manera bibliográfica-descriptiva para ser analizada y argumentada.

Consideraciones éticas

La presente revisión bibliográfica es de tipo documental en donde se realizó un análisis y verificación de toda la documentación seleccionada que cumplieran con toda la reglamentación tanto ética y bioética establecida, ya que no se trabajara con muestras biológicas humanas, animales o plantas.

Diagrama de flujo para la búsqueda bibliográfica y selección de información



CAPITULO III.

DESARROLLO

Características generales de las pruebas de coagulación

Amador-Vargas ²⁸ y Acosta et al ²⁹, en su estudio nos indican que la hemofilia B se clasifica en severa con una determinación del factor de 0,01UI/mL o < 1%, moderada con un valor del factor de 0,01UI/mL hasta 0,05UI/mL o de 1% al 5% y leve con un factor IX entre 0,05UI/mL a 0,4UI/mL o de 5% a 40%, un 2% de los individuos afectados tienen niveles entre 40% y 50% su clasificación es ambigua por tanto es confusa y aun no se resuelve, además los niños recién nacidos con sospecha de hemofilia se puede medir el factor VIII y IX en el cordón umbilical, pero se debe tener en cuenta que el diagnóstico de la hemofilia B puede ser un falso negativo porque los factores K dependientes se encuentran disminuidos en los primeros seis meses de vida, cabe recalcar que las hemorragias en el sistema nervioso central ocurren en menos del 5% de los paciente ²⁸⁻²⁹.

Acosta *et al* ²⁹, nos indica que estas pruebas nos ayudan a evaluar las distintas vías de la coagulación, el factor IX en el plasma se expresa en unidades internacionales por lo tanto su valor de referencia es de 0,5UI/mL a 1,50UI/mL o de 50% hasta un 150%. Los niveles que se encuentran por debajo del 50% determinan la sintomatología de un paciente que se caracteriza por una tendencia hemorrágica proporcional al grado de deficiencia del factor hemostático, en los casos graves la hemorragia suele ocurrir de forma espontánea normalmente con hemartrosis con deterioro en las articulaciones que soportan peso y puede provocar hematomas musculares profundos, luego de un procedimiento quirúrgico se debe valorar el sistema hemostático con hemograma, tiempo de tromboplastina parcial activado, tiempo de trombina, tiempo de protrombina y factores de la coagulación para el diagnóstico diferencial de patologías como la hemofilia A²⁹.

En la tabla 1 se presenta las características de las pruebas de coagulación de una recopilación de diferentes autores, se conoce que la hemofilia B se encuentra en una prevalencia de 1 en 30.000 personas y afecta a todo tipo de razas, la hemofilia A se considera como una

enfermedad huérfana en todo el mundo con una prevalencia de 26,6 por cada 100.000 nacidos vivos de sexo masculino, pacientes con hemofilia A se da por el déficit del FVIII, y pacientes con Hemofilia B se da por déficit del FIX.

Tabla 1. Características generales de las pruebas de coagulación utilizadas para el diagnóstico de hemofilia.

Autor	País	Características de la prueba de coagulación
Acosta Aragón Carruyo J, ²⁹	Colombia	El precursor del factor IX se sintetiza en el hígado con una vida media de 24 horas. El gen que codifica para este factor es el F9 localizado en el brazo largo del cromosoma X en la posición q26.3-21.1. Las mutaciones en el gen F9 impiden la producción de factor IX, lo cual conduce a los síntomas asociados con la hemofilia.
Ceresetto J.M <i>et al.</i> ³⁰	Buenos Aires – Argentina	La hemofilia tipo A, su incidencia es de 1.5 casos cada millón de habitantes por año, pero entre los 65 y 85 años llega a ser de 9 casos por millón de habitantes y en los mayores de 85 años, 15 por millón.
Santiago Pacheco V, <i>et al</i> ³¹ .	Colombia	Cuando una prueba de TPT es anormal, se puede investigar mejor utilizando estudios de mezcla o corrección con un pool de plasma normal, que puede ayudar a definir si las alteraciones se deben a la deficiencia de factor, a uso de anticoagulantes o presencia de inhibidores circulantes. Se debe tener en cuenta que al contrario de la hemofilia B, la hemofilia A sí se puede diagnosticar al nacer, incluso con una muestra de sangre del cordón umbilical, ya que el factor VIII

		no debe encontrarse en niveles bajos al nacer, lo que sí ocurre con el factor IX.
Viesca Contreras V, <i>et al</i> ³²	Chihuahua – México	La concentración del FVIII en la circulación es de aproximadamente 0.1 ug/ml. El valor normal de actividad del FVIII suele expresarse en forma de porcentaje y es de 50% a 200 % del valor control o referencia del laboratorio.
Casas Patarroyo CP. <i>Et al.</i> ³³	Chile	Muchos errores pre-analíticos se basan en la extracción de la muestra de sangre. Desafortunadamente, no siempre hay suficiente claridad de cuando una es pobre o inadecuada para el análisis, aspectos tan sencillos como la identificación errónea del paciente y error en el etiquetado de los tubos, resultará en interpretaciones inadecuadas de los resultados.
López Santiago N. ⁸	México	La hemofilia adquirida (HA) es un trastorno hemostático autoinmune ocasionado por autoanticuerpos dirigidos contra el factor VIII, el 52% de los casos las causas se desconocen o esta asociadas a otra patología; en el resto de los casos existen factores como el lupus, artritis reumatoide, cáncer, embarazo y medicamentos.

Ceresetto et al³⁰, expresa en su trabajo que la hemofilia A tiene una alta mortalidad asociada a sangrado en la piel y partes blandas entre 20 y 30% que puede llegar a un 40% si el paciente no tiene un tratamiento, un estudio reciente sitúa la mortalidad por sangrado entre el 10% y 20% aun en los países desarrollados, según el registro europeo de hemofilia adquirida³⁰.

Santiago et al³¹, expresa otra complicación frecuente es la hemorragia intracraneana con una incidencia de 1.9% y una tasa de mortalidad de 19.9%. La mitad de los niños que padecen de hemofilia severa desarrollan hematomas intramusculares a partir de los 6 a 8 meses de vida, mientras pacientes con hemofilia leve sangran en exceso solo en procedimientos

quirúrgicos, la hemofilia A está asociada a otras enfermedades, 15% enfermedades autoinmunes, 15% cáncer, 10% embarazo y posparto, 3 al 5% fármacos, sin embargo el 50% no padece ninguna enfermedad autoinmune por lo tanto se considera un fenómeno primario³¹.

Viesca et al ³², indica según el reporte de un caso de una paciente de 22 años sin antecedentes familiares de diátesis hemorrágica, 4 meses posteriores a su segundo parto inició con un cuadro clínico con aparición espontánea de equimosis y hematomas en múltiples áreas corporales, ocho meses después acudió de emergencia por tener tres días de evolución con un gran volumen en la mano izquierda, comprometiendo la región dorsal y palmar luego de exámenes de laboratorio se diagnosticó síndrome compartimentar en la mano izquierda en la cual se tuvo que intervenir, luego de las 24 horas del posoperatorio se presentó abundante sangrado, por lo cual se transfundieron concentrados de eritrocitos por disminución de la hemoglobina a 4.3 g/dl y hematocrito de 13.2%, los estudios de laboratorio demostraron déficit grave en la actividad del FVIII y presencia de inhibidores contra dicho factor, el TPT continuó prolongado, la paciente fue tratada con esteroides en altas dosis, factor VIIa recombinante, crioprecipitados, concentrados de factor VIII endovenosas hasta lograr estabilizarla. La confirmación de la hemofilia A se da con un TPT prolongado que no corrige con plasma normal, disminución en la actividad del FVIII, y anticuerpos antifactor VIII en Unidades Bethesda (UB) ³².

Casas et al ³³, en su estudio nos indica que la hemofilia A es poco frecuente con una incidencia de 1 a 1.5 casos por millón de personas por año, esto puede aumentar de acuerdo a los años de las personas, se estima anualmente una incidencia de 0,045 casos por millón en menores de 16 años, en mujeres embarazadas hay una incidencia de 1/350.000 partos, además se confirma con la detección de: TPT prolongado que no corrige con plasma normal, disminución en la actividad del FVIII, y anticuerpos antifactor VIII. El tratamiento se dirige a tres puntos fundamentales: detener la hemorragia, aumentar la concentración de FVIII y reducción de las concentraciones del inhibidor, en personas con enfermedades autoinmunes o en personas de ambos sexos está en promedio de 68 – 70 años, además la prolongación del tiempo de tromboplastina parcial activa, esta prueba se realiza inmediatamente después de mezclar el plasma del paciente y el plasma normal ³³.

López ⁸, nos indica que el tiempo de protrombina activa la coagulación cuando se le agrega tromboplastina y calcio; el resultado normal varía de 10 a 14 segundos con >60% de actividad, la importancia de este parámetro radica en su utilidad para evaluar la efectividad de la anticoagulación con antagonistas de la vitamina K. El tiempo de tromboplastina parcial activado evalúa la vía intrínseca de la coagulación y la vía común esta última, junto con el tiempo de protrombina. El resultado normal va de 25 a 45 segundos. El tiempo de trombina evalúa la conversión del fibrinógeno en fibrina, el valor normal va de 9 a 35 segundos, se puede prolongar por el fibrinógeno anormal. El fibrinógeno, última proteína de la cascada de la coagulación, puede medirse por métodos químicos o inmunitarios, se encuentra en concentraciones que van de 200 a 400 mg/dL ⁸.

Tipos de hemofilia presentes en niños y adolescentes

García-Majluf ³⁴, indica que para descartar la HA en pacientes sin hemorragias aparentes, pero con un TTPa prolongado que no se corrija con un plasma normal. Además nos indica que el 94% de pacientes con hemorragias tienen una mortalidad de 9 a 33%, el 80 al 90% de las hemorragias se dan en el sistema nervioso central. Otro diagnóstico del laboratorio es medir el FVIII es cual se encontrara debajo del rango normal y otra prueba definitiva es cuantificar la proteína del inhibidor utilizando la prueba de Bethesda o Nijmegen-Bethesda las cuales evalúan el título del inhibidor, la hemofilia A congénita cursa con hematomas grandes difusos y dolorosos que pueden provocar anemia, entre otras manifestaciones están hematomas en la mucosa gastrointestinal y genitourinaria, el 75% de la HA ocurre en mujeres en su primer embarazo ³⁴.

Jaime ²⁴, en un estudio realizado nos indica que una concentración del factor menor al 1% se considera grave, entre 1 y 5% moderada y una concentración entre 5 y 30% leve, pacientes con hemofilia grave presentan hemorragias espontaneas de repetición en las grandes articulaciones, hemorragias digestivas y hematurias graves. El tiempo de tromboplastina parcial activada siempre se va a encontrar prolongada y en pacientes con hemofilia leve se debe realizar la corrección del TTPa con plasma normal, este debe estar incubado a 37 °C y apoya al diagnóstico de la deficiencia de algún factor de coagulación de la vía intrínseca ²⁴.

Lavaut ³⁵ en su estudio realizado en el Centro Nacional de Genética Médica de Cuba el 30 al 40% de las familias que presentan por primera vez un varón afectado se los conoce como casos esporádicos, en un estudio de 40 familias afectadas con hemofilia A y 10 hemofilias B. Para el gen FVIII se estudiaron los polimorfismos RFLP'sintragénicos Bcl I, Hind III y el marcador extragénico RNTV: St14. Para el gen FIX se emplearon los marcadores intragénicos TaqI, Xmn I y D de I, del total de las familias estudiadas con HA, 23 fueron confirmadas y 4 familias para la HB. Además, se realizaron 19 diagnósticos prenatales con previa determinación del sexo fetal, incluidos 3 fetos varones enfermos ³⁵.

Hernández et al ³⁶, nos expresa en su trabajo realizado a un total de 9 pacientes diagnosticados se encontró un predominio de la hemofilia A de 8/9 y de la forma moderada de la enfermedad presente en 5 pacientes. Resulta importante recalcar que no se encontraron antecedentes de la enfermedad en el 33.3 % de los pacientes diagnosticados. En estos casos a los hombres de la línea materna se les realizó dosificación de factores, con resultados normales, lo que permitió excluir la posibilidad de la existencia de la deficiencia en las familias; los enfermos corresponden 2 a hemofilia A y 1 a hemofilia B ³⁶.

En un diagnóstico realizado ante del primer año de edad con un número de casos igual en el periodo neonatal y lactantes en un número de 3, encontrando diferencias siendo mayor la hemorragia intracraneal en el primer momento y las hemartrosis fue la principal causa de diagnóstico relacionada con el inicio de la deambulaci3n ³⁶.

En la tabla 2 se presenta un cuadro comparativo de las tipos de hemofilia que se pueden presentar en los ni3os y adolescentes, es una enfermedad que afecta principalmente los hombres, esto se da porque no hay una suficiente producci3n de factor VIII y IX, esto nos quiere decir que una persona puede sangrar en exceso luego de una lesi3n y se producen hemorragias internas principalmente en articulaciones.

Tabla 2. Tipos de hemofilia presentes en niños y adolescentes.

Autor	País	Tipo de hemofilia
García-Majluf ³⁴	México	La HA aparece por la producción excesiva sin ninguna causa de Auto-Ac tipo IgG que son capaces de neutralizar el factor VIII. Tiempo de tromboplastina parcial activada se encuentra prolongado, el principal síntoma es la hemorragia asociada con una mortalidad de 9 a 33%.
Lavaut ³⁵	La Habana – Cuba	En el Centro Nacional de Genética Médica de Cuba se realizó el estudio de 40 familias afectadas con hemofilia A y 10 hemofilia B. Para el gen FVIII se estudiaron los polimorfismos RFLP's intragénicos Bcl I, Hind III y el marcador extragénico RNTV: St14. Para el gen FIX se emplearon los marcadores intragénicos TaqI, Xmn I y D de I.
Hernández <i>et al</i> ³⁶	Pinar del Rio - Cuba	Del total de 9 pacientes diagnosticados se encontró un franco predominio de la hemofilia A 88.9 % y de la forma moderada de la enfermedad presente en 5 pacientes A los hombres de la línea materna se les realizó dosificación de factores, con resultados dentro de límites normales, los enfermos corresponden 2 a hemofilia A y 1 a hemofilia B, los pacientes de acuerdo a la severidad de hemofilia han presentado al menos un episodio de sangrado.
López Arroyo <i>et al</i> . ³⁸	México	En México en el 2018 se reportó un total de 4.761 casos de HA y 724 de HB con un predominio en la población mayor a 19 años y sin definición del tipo de hemofilia 329 casos.

Jaime-Gómez ²⁴	México	La distinción entre ambas es importante por su tratamiento, debido a las diferencias existentes entre las moléculas de los factores VIII y IX; se producen en lugares distintos y tienen vidas medias diferentes 15 h para el factor VIII y 24 h para el IX.
Mendoza et al ³⁹	Perú	La Hemofilia A y B, su principal consecuencia es la discapacidad ya que se produce un deterioro progresivo de la persona a una edad muy temprana, para la confirmación de esta enfermedad es la cuantificación del factor VIII y IX por debajo del 40%.
Alonso et al. ⁴⁰	España	Los pacientes con hemofilia A moderada y leve según Nagel y cols. Presentan una mayor incidencia de hemorragias que las personas que padezcan hemofilia B. el patrón genético en HB es menos grave y se produce más mutaciones <i>missense</i> por lo tanto se produce una menor incidencia de gravedad en la HB que la HA.

López Arroyo et al.³⁸, nos indica en su estudio realizado en México en la cual se reportó un total de 4.761 casos de HA y 724 casos de HB, con un predominio en personas mayores a los 19 años. Para el diagnóstico de hemofilia concuerda con Mendoza et al ³⁹, el cual nos indica que las pruebas que se deben realizar es un hemograma completo con plaquetas, lámina periférica, tiempo de protrombina y el tiempo de tromboplastina parcial activada, ante la presencia de TTPa prolongado se sugiere realizar la prueba de mezcla con pools de plasma normal ³⁸.

La Hemofilia A y B, su principal consecuencia es la discapacidad ya que se produce un deterioro progresivo de la persona a una edad muy temprana, esta enfermedad requiere un manejo muy complejo, para la confirmación de esta enfermedad es la cuantificación del factor VIII y IX por debajo del 40% ³⁹.

Alonso et al.⁴⁰, nos indican que los pacientes con hemofilia A moderada y leve presentan una mayor incidencia de hemorragias que las personas que padezcan hemofilia B. el patrón genético en HB es menos grave y se produce más mutaciones *missense* por lo tanto se produce una menor incidencia de gravedad en la HB que la HA con un porcentaje de 35% HB frente a 45% en HA. Además nos dio a conocer que Concizumab es un inhibidor del factor tisular se encuentra en ensayo clínico y ayuda en la activación del FVII y el factor tisular que activa el FX⁴⁰.

Silva-Uribe³⁷, en su estudio realizado en Colombia sobre la conducta de los pacientes con hemofilia A tomo como muestra 27 sujetos hombres, con un rango de edad de 19 y 55 años el 77,8% eran de Santander y el 22,2% de Antioquia para el estudio de diferentes variables en la cual se evaluó, ante lo cual se halló que todos habían presentado episodios de dolor, sin embargo el 63% tenían dolor crónico.

Frente a la ubicación del dolor se evidencia que en la mayoría se presenta en las articulaciones (86%), y en menor medida en los músculos y tejidos blandos (13%) y ninguna 1%; el 51,9% no usaban tratamiento para el manejo del dolor, seguido del 44,4% que empleaban tratamiento medicamentoso. A su vez, el 81,5% de los sujetos tenían tratamiento profiláctico para la hemofilia, con el fin de prevenir hemorragias; el 55,2% fueron diagnosticados con hemofilia en sus primeros 5 años de vida, seguido por el diagnóstico entre los 11 y 17 años de edad con un porcentaje de 25,9% y después de los 18 años de edad con un porcentaje de 18,5%³⁷.

Diagnóstico diferencial de la hemofilia A y B

La tabla 3 nos indica el diagnóstico diferencial de deficiencia del factor VIII y IX que se puede dar tanto en la hemofilia A y B. Las pruebas de coagulación como es el tiempo de protrombina, el tiempo de tromboplastina parcial activada, el tiempo de sangría y plaquetas son pruebas que nos ayudan a identificar qué factores de la cascada de la coagulación se encuentran alterados.

Tabla 3. Diagnóstico diferencial de deficiencia del FVIII y IX

Posible diagnóstico	Tiempo de protrombina (TP)	Tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa)	Tiempo de sangrado (TS)	Plaquetas
Hemofilia A y B	Normal	Prolongado	Normal	Normal
Factor de Von Willebrand	Normal	Normal o prolongado	Normal o prolongado	Normal o disminuido
Hemofilia adquirida	Normal	Prolongado	Normal	Normal
Deficiencia plaquetaria	Normal	Normal	Normal o prolongado	Normal o bajo

Melo-Murciano⁴¹, nos indica que las pruebas de TP y TTPa y el fibrinógeno son suficientes para una determinación diagnóstica en pacientes con hemofilia. Zamora⁴², expresa que el TTPa explora los factores plasmáticos relacionados con la vía intrínseca y común de la coagulación, mientras que el TP explora la vía extrínseca de la coagulación y el TT rastrea de forma rápida el tiempo para la formación de fibrinógeno en fibrina.

Copana et al.⁴³, Torrent⁴⁶, Cela et al.⁴⁸, expresan que los trastornos hemorrágicos se dan cuando se alteran algunas de las partes que intervienen en estos procesos como los vasos sanguíneos, plaquetas entre otros, entre los trastornos hemorrágicos hereditarios tenemos la HA y la HB, que se pueden manifestar desde los primeros meses de vida si el déficit de los factores es grave. Falcon et al.⁴⁷, nos explica que un TP normal y un TTPa prolongado se dan por un déficit del factor VIII y IX, pero si se encuentran ambos factores prolongados se debe realizar otros análisis para evaluar la deficiencia del FV, FX, protrombina, fibrinógeno.

Romero et al.⁴⁵, según su estudio a un total de 47 niños en estudio la mayoría de los niños remitidos para descartar una coagulopatía son derivados por un TTPa alargado son el 75% y un 48% del total de niños estudiados son sanos.

Sepúlveda et al.⁴⁴, Sánchez et al.⁴⁹ explican que la hemoglobina A tiene una prevalencia de 0.2 a 0.6 casos por millón de personas por año, se da con mayor frecuencia en adultos de 20 a 30 años y principalmente en adultos mayores entre los 60 y 80 años, en la mayoría de la población analizada más del 80% se da en adultos mayores de 60 años.

Tratamiento según el sitio de la hemofilia

La tabla 4 nos indica la dosis correcta y el tiempo de duración de cada uno de los factores VIII y IX para detener las hemorragias agudas en las diferentes partes del cuerpo, la vida media de los factores está estimada entre las 12 y 24 horas tiempo en el cual se debe administrar la mitad de la dosis para alcanzar los niveles terapéuticos deseados para ello es recomendable conocer los niveles de los factores mediante pruebas de laboratorio antes de la siguiente dosis.

Tabla 4. Tratamiento según el sitio de la hemorragia.

Sitio de la hemorragia	Nivel óptico del factor (%)	Dosis (UI/kg) factor IX	Dosis (UI/kg) factor VIII	Duración en días
Articulación	30 – 50	30 – 50	20 – 30	1 – 2
Músculo	30 – 50	30 – 40	20 – 30	1 – 2
Tracto gastrointestinal	40 – 60	40 – 60	30 – 40	7 – 10
Mucosa oral	30 – 50	30 – 60	20 – 30	Hasta resolución
Epistaxis	30 – 50	40 – 60	20 – 30	Hasta resolución
Hematuria	30 – 100	70 – 100	20 – 30	Hasta resolución
Sistema nervioso	60 – 100	80 – 100	50	7 – 10
Retroperitoneal	50 – 100	60 – 100	30 – 50	7 – 10

Amador-Vargas²⁸, nos indican en su estudio que la vida media de los factores VIII y IX es de 12 y 24 horas, respectivamente, tiempo en el cual se debe repetir la mitad de la dosis para

alcanzar los niveles terapéuticos deseados; además es recomendable el monitoreo de cómo se encuentra el paciente antes de la siguiente dosis. Para la administración de los concentrados hay dos técnicas: la infusión en bolo y la infusión continua. En algunos estudios se ha encontrado un beneficio de ahorro del factor VIII con la infusión continua cuando se compara con la infusión en bolo²⁸.

CONCLUSIONES

- Las coagulopatías congénitas se caracterizan por la afección a los diferentes factores de coagulación, dependiendo de la magnitud de esta pueden aparecer en la infancia o adolescencia e inclusive en la etapa adulta, las cuales van afectar a la calidad de vida de los pacientes, las coagulopatías hereditarias pueden heredarse de manera dominante o recesiva y autosómica o ligada al sexo, se denomina hemofilia tipo A la deficiencia de factor VIII y hemofilia B a la de factor IX.
- El síntoma clásico de esta enfermedad es la hemorragia y la intensidad de esta va a depender de varios factores como el nivel circulante del factor deficiente, traumatismos, presencia de inhibidores, entre otros, además pueden presentar más síntomas asociados por hemorragias prolongadas luego de una cirugía, moretones, periodos menstruales con frecuencia abundante y mayor probabilidad de presentar hemorragias posparto. Por lo que un paciente hemofílico grave ante la presencia de un mínimo traumatismo puede presentar sangrados espontáneos.
- El diagnóstico se establece con la ayuda del laboratorio con los datos de las diferentes pruebas de coagulación para la evaluación de esta enfermedad, una de ellas es el tiempo de protrombina la cual va a evaluar los factores que pertenecen a la vía extrínseca y común de la coagulación, mientras que el tiempo de trombina y fibrinógeno valoran la actividad del fibrinógeno que se convierte en hebras de fibrina y el TTPa determina los factores II, V, VIII, IX, X, XI, XII que corresponden a las vías intrínseca y común de la cascada de coagulación. La carencia de estos factores se da por la falta de vitamina K, hepatopatías y antagonistas de la vitamina K. Dependiendo del cuadro clínico del paciente se clasificara a la hemofilia como severa con un nivel del factor de coagulación inferior al 1%, moderada con un nivel de 1 a 5% y leve con un factor entre 5 a 40% del valor normal.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Martínez Sánchez LM, Álvarez Hernández LF, Ruíz Mejía C, Jaramillo Jaramillo LI, Buñes Restrepo LN, Villegas Álzate JD, Hemofilia: abordaje diagnóstico y terapéutico. Rev Fac Nac Salud Pública. [Internet]. 2018 [Consultado el 17 de agosto 2021]; 36(2). Disponible en:
<https://www.proquest.com/docview/2138062916/505B21EEF73B4307PQ/1?accountid=36757>
2. Valderrama Vargas Y, Linares Ballesteros A, Características de los sangrados en niños con hemofilia en un centro de referencia en Colombia. Rev. Univ. Ind. Santander. Salud. [Internet]. 2018 [Consultado el 17 de agosto 2021];50(1) Disponible en:
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-08072018000100019
3. Guillamón M, Octopharma anuncia la aprobación de la FDA para la actualización de la información de prescripción de NUWIQ, que incluirá datos de inmunogenia en pacientes sin tratamiento previo. BUSINESS WIRE. [Internet]. 2020 [Consultado el 17 de agosto de 2021]; Disponible en:
<https://www.businesswire.com/news/home/20201019005885/es/>
4. Parrado Jara YA, Yunis Hazbun LK, Linares A, Yunis Londoño JJ, Molecular characterization of hemophilia B patients in Colombia. Molecular Genetics & Genomic Medicine. [Internet]. 2020 [Consultado el 17 de agosto de 2021]; 8(5). Disponible en:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mgg3.1210>
5. Federación Mundial de la Hemofilia. Un estudio de la Federación Mundial de Hemofilia actualiza la prevalencia de la hemofilia. WFH. [Internet] 2019. [Consultado el 17 de agosto de 2021]; Disponible en: <http://www1.wfh.org/publications/files/pdf-1513.pdf>
6. EFE News Service. Un 75% de casos de hemofilia en México pueden no tener tratamiento adecuado: México Salud. [Internet] 2021. [Consultado el 17 de agosto de 2021]; Disponible en:
<https://www.proquest.com/docview/2499447444/fulltext/E46D3B4CBA054A8EPQ/3?accountid=36757#>
7. Soria Silva JE, Implementación de la Clínica de Atención Integral para pacientes con hemofilia y otras alteraciones congénitas de la hemostasia en el hospital Carlos Andrade

- Marín. Quito 2018. USFQ. [Internet] 2018. [Consultado el 17 de agosto de 2021]; Disponible en: <https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/7144/1/137143.pdf>
8. López Santiago N, Pruebas de coagulación. Acta pediátr. Méx [Internet] 2016. [Consultado el 18 de agosto de 2021]; 37(4) Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0186-23912016000400241
 9. Santiago Pacheco V, Vizcaíno Carruyo J, Hemofilia A: una enfermedad huérfana. Medicina & Laboratorio [Internet] 2021. [Consultado el 18 de agosto de 2021]; 25(3) Disponible en: <https://medicinaylaboratorio.com/index.php/myl/article/view/452>
 10. Almagro Vásquez D, Hemofilia A adquirida. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. [Internet] 2010. [Consultado el 18 de agosto de 2021]; 25(3) Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892010000300001
 11. Casuriaga A, Lemos F, Giachetto G, Jaime J, Martínez C, Martínez A, et al. Características epidemiológicas y clínicas de los menores de 18 años con hemofilia asistidos en el Centro Hospitalario Pereira Rossell. 2016 – 2018. Arch. Pediatr. Urug. [Internet] 2021. [Consultado el 24 de agosto de 2021]; 9(1) Disponible en: http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-12492021000101205
 12. Srivastava A, Brewer A, Mauser-Bunschoten E, Key N, Kitchen S, Llinas A, et al. GUÍAS PARA EL TRATAMIENTO DE LA HEMOFILIA. FMH. [Internet] 2012. [Consultado el 24 de agosto de 2021]; 2^{da}. Disponible en: <http://www1.wfh.org/publications/files/pdf-1513.pdf>
 13. Ballez G. Intervalos de referencia en pruebas de coagulación en donantes sanos del INEN– Lima. [Internet] 2012. [Consultado el 24 de agosto de 2021]. Disponible en: <http://repositorio.unfv.edu.pe/bitstream/handle/UNFV/1934/BALLEZ%20ROJAS%2C%20GIANINA%20SUSAN%20-TESES%20-FTM.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 14. Arbesú G, Dávoli M, Elhelou L, Gastaldo S, Honnorat E, López MJ, et al. Hemofilia; Basada en la Guía de Tratamiento de la Fundación de la Hemofilia de la Argentina. [Internet] 2017. SAH. [Consultado el 18 de agosto de 2021]; Disponible en: <http://sah.org.ar/docs/2017/003-Hemofilia.pdf>
 15. Castillo González D, Hemofilia: aspectos históricos y genéticos. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. [Internet] 2012. [Consultado el 18 de agosto de 2021]; 28(1)

- Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892012000100003
16. Guerrero B, López M, Generalidades del sistema de la coagulación y pruebas para su estudio. Invest. Clín. [Internet] 2015. [Consultado el 18 de agosto de 2021]; 56(4) Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0535-51332015000400010
 17. García Candel F, Estudio descriptivo mutacional de pacientes hemofílicos en la región de Murcia. [Internet] 2011. [Consultado el 26 de septiembre de 2021]. Disponible en: <https://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/127307/TFGC.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 18. Gómez Baute RA, Guerra Alfonso T, Dita Salabert L, Fernández Águila JD, Cabrera Zamora M, Teoría celular de la coagulación: de las cascadas a las membranas celulares. MediSur. [Internet] 2011. [Consultado el 18 de agosto de 2021]; 9(2) Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-897X2011000200011
 19. Amador medida LA, Vargas Ruiz AG, Hemofilia. Rev. Med. Inst. Mex. [Internet] 2013. [Consultado el 26 de septiembre de 2021]; 51(6) Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2013/im136i.pdf>
 20. Federación Mundial de Hemofilia. Portadoras y mujeres con hemofilia. FMH. [Internet] 2012. [Consultado el 26 de septiembre de 2021]. Disponible en: <http://www1.wfh.org/publications/files/pdf-1532.pdf>
 21. Martinuzzo ME, Pruebas de laboratorio para la evaluación de la hemostasia: fundamentos básicos. Hematología. [Internet] 2017. [Consultado el 18 de agosto de 2021]; 28(1) Disponible en: <http://www.sah.org.ar/revista/numeros/vol21/extra/11-Vol%2021-extra.pdf>
 22. Zamora Gonzales Y. Pruebas del coagulograma y componentes de la hemostasia. Utilidad para diagnosticar las diátesis hemorrágicas. Rev. Cuba. de Hematol. Inmunol.Hemote. [Internet] 2012. [Consultado el 24 de agosto de 2021]; 28(2) Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/hih/v28n2/hih05212.pdf>
 23. Cromatest. Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPA). [Internet]. [Consultado el 24 de septiembre de 2021]. Disponible en: http://www.linear.es/ficheros/archivos/760_3510201APTTcas.pdf

24. Jaime Pérez JM, Gómez Almaguer D, Hematología la sangre y sus enfermedades. 3th.ed. México: Mc Graw-Hill Interamericana. [Internet] 2012. [Consultado el 24 de agosto de 2021]; Disponible en:
<http://www.untumbes.edu.pe/vcs/biblioteca/document/varioslibros/0838.%20Hematolog%C3%ADa%20-%20Jaime%20P%C3%A9rez%20ed.pdf>
25. Cromatest. Tiempo de Protrombina (PT). [Internet]. [Consultado el 24 de septiembre de 2021]. Disponible en:
[http://www.linear.es/ficheros/archivos/765_3510101PT\(35025\)cas.pdf](http://www.linear.es/ficheros/archivos/765_3510101PT(35025)cas.pdf)
26. Malagón D, Cardozo A, Godoy R. Uso de fibrinógeno humano en la generación de soportes para la obtención de equivalentes tisulares. Rev. Colomb. Biotecnol. [Internet] 2011. [Consultado el 24 de septiembre de 2021]; 3(2). Disponible en:
<https://www.proquest.com/docview/1677632002/C773929DB119456CPQ/1?accountid=36757>
27. Wiener lab. Tiempo de Trombina (TP). [Internet]. [Consultado el 24 de septiembre de 2021]. Disponible en: https://www.wienerlab.com.ar/VademecumDocumentos/Vademecum%20espanol/tiempo_trombina_sp.pdf
28. Amador Medina LF, Vargas Ruiz AG, Hemofilia. Medigraphic. [Internet] 2013. [Consultado el 18 de septiembre de 2021]; 51(6). Disponible en:
<https://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2013/im136i.pdf>
29. Acosta Aragón MA, Álvarez Mina AR, Velásquez Paz JC, Vizcaíno Carruyo JC. Hemofilia B enfermedad de Christmas. Medicinaylaboratorio. [Internet] 2020. [Consultado el 28 de septiembre de 2021]; 24(4). Disponible en:
<https://medicinaylaboratorio.com/index.php/myl/article/view/336/321>
30. Ceresetto JM, Duboscq C, Fondevila C, Tezanos Pinto M. Hemofilia adquirida, inhibidor adquirido del factor VIII. MEDICINA Buenos Aires. [Internet] 2015. [Consultado el 18 de septiembre de 2021]; 75(4). Disponible en:
<http://www.medicinabuenosaires.com/revistas/vol75-15/n4/231-238-Med75-4-6377-Ceresetto-.pdf>
31. Santiago Pacheco V, Vizcaíno Carruyo J, Hemofilia A, una enfermedad huérfana. Editora Médica Colombiana S.A. Medellín, Colombia. [Internet] 2021. [Consultado el 28 de septiembre de 2021]; 25(3). Disponible en:
<https://medicinaylaboratorio.com/index.php/myl/article/view/452/411>

32. Viesca Contreras V, Amatón Tabares R, Duque Rodríguez J. Hemofilia adquirida tipo A. Reporte de caso. Revista Médica. [Internet] 2017. [Consultado el 28 de septiembre de 2021]; 25(3). Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmed/md-2017/md173i.pdf>
33. Casas Patarroyo CP, Agudelo López CP, Galvez K, Lagos Ibarra J, Martinez Rojas S, Ibatá Bernal. Importancia de la orientación diagnóstica en hemofilia A adquirida. Rev. méd. Chile. [Internet] 2019. [Consultado el 28 de septiembre de 2021]; 147(3). Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872019000300334
34. Majluf Cruz A, García Chávez J. Hemofilia adquirida. Gac. Med. Mex. [Internet] 2019. [Consultado el 28 de septiembre de 2021]; 156(67). Disponible en: https://www.gacetamedicademexico.com/files/es/gmm_20_156_1_067-077.pdf
35. Lavaut Sánchez K. Importancia del diagnóstico e portadoras en familias con antecedentes de hemofilia. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. [Internet] 2014. [Consultado el 28 de septiembre de 2021]; 30(2). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892014000200003
36. Hernández Gonzalez JL, Campos Díaz M, Valdés Sojo C, Borrero Cordero G, Cabrera Morales C. Comportamiento clínico y complicaciones de la hemofilia en la población pediátrica. Rev. Ciencias Médicas. [Internet] 2018. [Consultado el 28 de septiembre de 2021]; 22(2). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-31942018000200004
37. Silva Fernández CS, Uribe Rodríguez AF. Comparación de la conducta de enfermedad en pacientes colombianos con hemofilia A, en una muestra con dolor crónico y sin dolor crónico. Silva et al. [Internet] 2016. [Consultado el 28 de septiembre de 2021]; 14(26). Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702016000200008
38. Gaceta Médica de México. Consenso de hemofilia en México. Gac. Med. Mex. [Internet] 2021. [Consultado el 28 de septiembre de 2021]; 157(1). Disponible en: https://www.gacetamedicademexico.com/portadas/gmm_21_157_s1_001-037.pdf
39. Mendoza Ordoñez S, Loayza Urcia N, Trujillo Cerna M, Herrera Cunti C, Yanac Avila R, Ormeño Apaza W, Delgado Silva C, Díaz Robles D, Hernández A, Piscocoya A, Suárez Moreno V, Timaná-Ruiz R. Guía de práctica clínica para el diagnóstico y tratamiento de

- hemofilia en el Seguro Social de Salud del Perú. An Fac med. [Internet] 2018. [Consultado el 8 de octubre de 2021]; 79(1). Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v79n1/a15v79n1.pdf>
40. Alonso Escobar MN, Fernández Docampo M, García Candel F, Gómez Outes A, López Fernández MF, Marco Rico A, et al. Recomendaciones para el tratamiento de la hemofilia B. FEDHEMO. [Internet] 2020. [Consultado el 8 de octubre de 2021]; Castello 128(1°). Disponible en: <https://www.hemofiliavalladolidpalencia.org/2020/05/02/recomendaciones-para-el-tratamiento-de-la-hemofilia-b/>
41. Melo Valls M. Murciano Carrillo T. Interpretación del hemograma y pruebas de coagulación. Pediatr Integral. [Internet] 2012. [Consultado el 8 de octubre de 2021]; 16(5). Disponible en: <https://www.pediatriaintegral.es/wp-content/uploads/2012/xvi05/06/Regreso.pdf>
42. Zamora González Y. Pruebas del coagulograma y componentes de la hemostasia. Utilidad para diagnosticar las diátesis hemorrágicas. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemater. . [Internet] 2012. [Consultado el 8 de octubre de 2021]; 28 (2). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892012000200005
43. Copana Olmos R. Peralta Caballero M. Unzueta Quiroga R. Carpio Deheza G. Utilidad del tiempo de protrombina y el tiempo parcial de tromboplastina activada en la valoración preoperatoria de la hemostasia en pediatría. Gac Med Bol. [Internet] 2020. [Consultado el 8 de octubre de 2021]; 43 (2). Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1012-29662020000200004
44. Sepúlveda M. Salgado A. Barriga J. Toso A. Rojas F. Aguirre N. Zúñiga P. Utilidad del tromboelastograma en pediatría: Correlación con pruebas habituales de la coagulación. Rev. Chil. Pediatr. [Internet] 2019. [Consultado el 8 de octubre de 2021]; 90 (6). Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-41062019000600617
45. Romero I. Conde N. García Aldana D. Ruano A. Fernández Teijeiro A. Revisión de los pacientes estudiados por coagulopatía en una unidad de Oncohematología. Asociación española de Pediatría. [Internet] 2016. [Consultado el 8 de octubre de 2021]; 84 (2).

Disponible en: <https://www.analesdepediatria.org/es-revision-pacientes-estudiados-por-coagulopatia-articulo-S1695403315001472>

46. Torrent Español M. Interpretación del hemograma y de las pruebas de coagulación. Hemato/oncología pediátrica. [Internet] 2012. [Consultado el 8 de octubre de 2021]; 1 (1). Disponible en: https://www.aepap.org/sites/default/files/documento/archivos-adjuntos/_9o.pdf
47. Falcón Rodríguez M. Molinés Honrubia A. Pruebas básicas en hematología. Canarias pediátrica. [Internet] 2021. [Consultado el 8 de octubre de 2021]; 45(2). Disponible en: <https://scptfe.com/wp-content/uploads/2021/06/canarias-pedia%CC%81trica-vol-45-2-may-ago-2021.pdf>
48. Cela de Julián E. Huerta Aragonés J. Hematología práctica interpretación del hemograma y de las pruebas de coagulación. Servicio de Pediatría. Hospital General Universitario Gregorio Marañón Madrid. [Internet] 2018. [Consultado el 8 de octubre de 2021]; 45(2). Disponible en: https://www.aepap.org/sites/default/files/507-526_hematologia_practica.pdf
49. Sánchez Hurtado LA, Toledo Salinas O, Landaverde López A, Gómez Flores SS, Tejeda Huez, BC, Baltazar Torres JA. Hemofilia adquirida tipo A en cuidados intensivos. Reporte de casos. Revista Médica. [Internet] 2020. [Consultado el 8 de octubre de 2021]; 45(2). Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/4577/457768136017/457768136017.pdf>
50. Panizo Morgado E. Páramo Fernández J.A, Interpretación de las pruebas de coagulación. Servicio de Pediatría. Clínica Universidad de Navarra. [Internet] 2021. [Consultado el 9 de noviembre de 2021]; 25(5). Disponible en: https://cdn.pediatriaintegral.es/wp-content/uploads/2021/xxv05/07/n5-265e1-11_RegBases_Panizo.pdf
51. Corona Rodarte E, García Hernández F, Henríquez Santos G, Pérez Sámano D, Hemofilia A adquirida auto-inmunitaria. Rev. Hematol. Mex. [Internet] 2021. [Consultado el 9 de noviembre de 2021]; 21(2). Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/hematologia/re-2021/re212g.pdf>
52. Veliz Orga D.S, Yachachin Vargas S.W, Evaluación del tiempo de protrombina en sangre total y plasma citratado en los pacientes adultos que acuden al servicio de laboratorio en el Hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé en los meses de abril – septiembre del 2016. [Internet] 2017. [Consultado el 9 de noviembre de 2021].

Disponible en:
https://repositorio.upla.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12848/162/Dayana_Veliz_Sally_Yachachin_Tesis_Titulo_2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y

53. Rodríguez F. Tiempo de trombina. Blog de laboratorio clínico y biomédico. [Internet] 2019. [Consultado el 9 de noviembre de 2021]. Disponible en:
<https://www.franrzm.com/tiempo-de-trombina/>

ANEXOS

Anexo 1. Efectos de la hemofilia

LOS EFECTOS DE LA HEMOFILIA

LA HEMOFILIA ES UNA AFECTACIÓN HEREDITARIA

LAS PRIMERAS MANIFESTACIONES **SUELEN PRESENTARSE A TEMPRANA EDAD**

ALGUNOS SIGNOS ASOCIADOS CON LA PATOLOGÍA SON:



Aparición de hematomas
(morados) en distintas partes del cuerpo, sin causa aparente



Hinchazón en las articulaciones,
que provocan dolor extremo



Hemorragias internas y, en ocasiones, también externas



Sangrado prolongado debido a heridas, ya que la patología afecta la capacidad de coagulación sanguínea



Sangrado que empieza **sin razón alguna**

Cuando se produce una hemorragia interna, las articulaciones suelen verse afectadas



Fuente: Romero H.G. Hemofilia la enfermedad de las hemorragias y fuertes dolores. [Internet] 2020. [Consultado el 18 de noviembre de 2021]; Disponible en: <https://www.elnuevodiario.com.ni/nacionales/497834-hemofilia-nicaragua-enfemedad-diagnostico/>

Anexo 2. Algoritmo para el estudio del paciente con hemorragia

Problema plaquetario	Tiempo de sangrado Cuenta plaquetaria	
Deficiencia de un factor de la coagulación	TP alterado TTPa alterado TP y TTPa alterados	Factor VII Factores XII, XI, IX, VIII Factor X, V, protrombina, fibrinógeno
Deficiencia de múltiples factores	TP y TTPa alterados	Deficiencia de vitamina K, hepatopatías, antagonistas de vitamina K
Anticoagulantes circulantes	TTPa alterado	Heparina Anticuerpos contra factor VIII o IX Anticoagulante lúpico
Coagulopatía por consumo	Plaquetas bajas TP, TTPa y TT alterados Fibrinógeno disminuido Productos líticos de fibrina, dímeros D	CID Sepsis SHU/PTT Hepatopatía

Fuente: López Santiago N, Pruebas de coagulación. Acta pediatri. Méx [Internet] 2016. [Consultado el 18 de agosto de 2021]; 37(4) Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0186-23912016000400241

Anexo 3. Datos generales del porcentaje de hemofilia en el mundo.



Fuente: Delgado J. Hemofilia. [Internet] 2015. [Consultado el 18 de noviembre de 2021]. Disponible en: <http://elsiglo.com.pa/panama/falta-medicamentos-golpea-hemofílicos/23859742>

Anexo 4. Tipos de hemofilia y su severidad

Tipo de Hemofilia	Severidad							
	Leve		Moderada		Severa		Total	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Hemofilia A	1	12,5	5	62,5	2	25,0	8	88,9
Hemofilia B	1	100	-		-		1	11,1
Hemofilia C	-		-		-		-	
Total	2	22.2	5	55.5	2	22.2	9	100

Fuente: Hernández Gonzalez JL, Campos Díaz M, Valdés Sojo C, Borrero Cordero G, Cabrera Morales C. Comportamiento clínico y complicaciones de la hemofilia en la población pediátrica. Rev. Ciencias Médicas. [Internet] 2018. [Consultado el 28 de septiembre de 2021]; 22(2). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-31942018000200004

Anexo 5. Inserto Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPA)

APTT CE

PRESENTACION			
REF	3510201	APTT	10 x 4 mL
Sólo para uso diagnóstico <i>in vitro</i>			

APTT

Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPA)
Ácido elálgico

FUNDAMENTO

La capacidad sanguínea de formar un coágulo de fibrina a través de la vía hemostática intrínseca requiere los factores de coagulación I, II, V, VIII, IX, X, XI y XII, así como lípidos plaquetarios y calcio². La prueba del TTPA se efectúa a través de la adición en el plasma de una suspensión de cefalina de cerebro de conejo conteniendo un activador de superficie¹. El TTPA ha demostrado ser una medición simple y altamente fiable del mecanismo intrínseco de la coagulación³.

COMPOSICION DE LOS REACTIVOS

APTT Cefalina de cerebro de conejo y ácido elálgico como activador. Tampón, estabilizadores y conservantes.

Optativo. **Calcium Chloride** 0,02 mol/L Ref. 3510401
Plasma Control Level 1 Ref. 3520101,
Plasma Control Level 2 Ref. 3520201.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Conservar a 2-8°C.
El Reactivo es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Una vez reconstituido, es estable 5 días, conservado en el vial original a 2-8°C. No congelar.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

1. Reconstituir el vial de APTT con **4,0 mL** de agua destilada.
2. Tapar el vial y mezclar suavemente hasta disolver su contenido. Evitar la formación de espuma. Mantener 30 min. a temperatura ambiente, antes de su uso.

MUESTRAS

El plasma para el ensayo debe prepararse a partir de sangre total citrada, **sin heparina**, EDTA ni oxalato.

1. Extracción

- Extraer la sangre con **jeringa** de plástico o de vidrio siliconado.
- Transferir de inmediato 9,0 mL de sangre a un tubo conteniendo 1,0 mL de citrato sódico al 3,2% ó 3,8%, ó
- Recolectar la sangre en un **tubo de vacío** conteniendo citrato sódico al 3,2% ó 3,8%.

Respetar la proporción de 9 partes de sangre y 1 parte de citrato. Variaciones en esta razón pueden afectar el resultado de las pruebas.

No deben usarse conectores o catéteres heparinizados.

Se recomienda que las pruebas de coagulación se realicen con muestras procedentes de la segunda o tercera extracción.

2. Preparación del Plasma

- Mezclar bien por inversión y centrifugar la mezcla 15 minutos a 2.500 x g lo antes posible tras la extracción.
- Transferir el plasma a un tubo plástico, a menos que las muestras vayan a ser analizadas inmediatamente.

Plasmas hemodiluidos, que contengan glóbulos rojos, o con más de 10,000 plaquetas por milímetro cúbico, no deben usarse en pruebas de coagulación.

3. Conservación del Plasma

Las muestras pueden almacenarse a 18-26°C un máximo de 2 horas; a 2-8°C hasta 4 horas; a -20°C un máximo de 2 meses; o a -70°C hasta 6 meses.

El plasma puede centrifugarse nuevamente, antes de ser congelado, para asegurar que todas las células han sido extraídas. Las muestras deben ser descongeladas rápidamente y analizadas de inmediato. Evitar el contacto de las muestras con material de vidrio. Las muestras no deben ser incubadas a 37°C más de 5 minutos, para evitar la pérdida de actividad de los factores V y VII. La pérdida del factor V puede prolongar el tiempo de protrombina.

INTERFERENCIAS

- Retrasos en la realización del ensayo, dificultades en la extracción de las muestras, o veripuntura por debajo del punto de administración de una solución de heparina pueden dar resultados de TTPA falsamente prolongados⁷.
- El TTPA puede asimismo verse afectado por la acción de diversas drogas y medicamentos⁸. Los resultados de la determinación del TTPA durante la terapia con anticoagulantes pueden variar de acuerdo con el tipo, la dosis, la vía de administración, y el tiempo transcurrido desde la administración de la última dosis.

EQUIPO ADICIONAL

- Coagulómetro o cronómetro y baño a 37°C ± 0,5°C.
- Equipamiento habitual de laboratorio

TECNICA

El reactivo puede emplearse de forma manual o con sistemas semiautomáticos de detección del coágulo.

Es recomendable realizar la medición por duplicado.

1. Precalentar el CaCl₂ 0,02M a 37°C como mínimo 10 minutos.
2. Pipetear **50 µL** de muestra o plasma control en la cubeta de ensayo. Incubar a 37°C 3 minutos.
3. Adicionar **50 µL** del reactivo APTT a la cubeta de ensayo.
4. Incubar la mezcla a 37°C durante 3 minutos.
5. Rápidamente adicionar **50 µL** del CaCl₂ 0,02M precalentado y simultáneamente activar el cronómetro del instrumento.
6. Anotar el tiempo de coagulación en segundos.

Seguir las instrucciones de uso de los instrumentos empleados.

CALCULOS

Calcular el tiempo de coagulación promedio de los duplicados de las muestras y controles. La diferencia entre duplicados debe ser inferior al 5%. Repetir la prueba si es superior.

El TTPA puede ser expresado según lo indicado:

1. Segundos, tiempo de coagulación observado.

2. Tasa de TTPA:

$$\text{Tasa de TTPA} = \frac{\text{TTPA del paciente en segundos}}{\text{TTPA de plasma normal en segundos}}$$

Anexo 6. Inserto Tiempo de protrombina (TP)



LINEAR Chemicals, S.L.

PT-HS

PRESENTACION			
REF	3510101	PT-HS	10 x 5 mL
Sólo para uso diagnóstico <i>in vitro</i>			

PT-HS
 Tiempo de Protrombina (PT)
 PT con calcio
Reactivo de Alta Sensibilidad

FUNDAMENTO

La capacidad sanguínea de formar un coágulo de fibrina a través de la vía hemostática extrínseca requiere tromboplastina, calcio y factores I, II, V, VII y X^{4,5}. El reactivo de Linear PT-HS es una fuente de tromboplastina y calcio que activa específicamente el factor VII y la vía extrínseca de la coagulación.

Los factores de la vía intrínseca de la coagulación no están involucrados⁶, de tal modo que las deficiencias en los factores de esta vía (VIII, IX y XII) no son detectados por la prueba de PT.

COMPOSICION DE LOS REACTIVOS

PT-HS Tromboplastina liofilizada de cerebro de conejo y CaCl₂ Sodio azida 0,05%.
 Índice Internacional de Sensibilidad (ISI): 1,07 – 1,39.

DIL PT Diluyente.

Optativo. **Plasma Control Level 1** Ref. 3520101
Plasma Control Level 2 Ref. 3520201

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Conservar a 2-8°C. Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Una vez reconstituido, es estable 8 horas a 37°C o 5 días cuando se conserva en el vial original a 2-8°C. No congelar.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

1. Reconstituir el vial de **PT-HS** con un vial de **PT Diluyente**.
2. Tapar el vial y mezclar suavemente hasta disolver su contenido. Evitar la formación de espuma. Mantener 30 min. a temperatura ambiente, antes de su uso.

MUESTRAS

El plasma para el ensayo debe prepararse a partir de sangre total citrada, sin heparina, EDTA ni oxalato.

1. Extracción

- Extraer la sangre con **jeringa** de plástico o de vidrio silicónado.
- Transferir de inmediato 9,0 mL de sangre a un tubo conteniendo 1,0 mL de citrato sódico al 3,2% ó 3,8%, ó
- Recoger la sangre en un **tubo de vacío** conteniendo citrato sódico al 3,2% ó 3,8%.

Respetar la proporción de 9 partes de sangre y 1 parte de citrato. Variaciones en esta razón pueden afectar el resultado de las pruebas. No deben usarse conectores o catéteres heparinizados. Se recomienda que las pruebas de coagulación se realicen con muestras procedentes de la segunda o tercera extracción.

2. Preparación del Plasma

- Mezclar bien por inversión y centrifugar 15 minutos a 2.500 x g, lo antes posible tras la extracción.
- Transferir el plasma a un tubo plástico, a menos que las muestras vayan a ser analizadas inmediatamente. Plasmas hemodilizados, que contengan glóbulos rojos, o con más de 10,000 plaquetas por milímetro cúbico, no deben usarse en pruebas de coagulación.

3. Conservación del Plasma

Las muestras pueden almacenarse a 18-26°C un máximo de 2 horas; a 2-8°C hasta 4 horas; a -20°C un máximo de 2 meses; o a -70°C hasta 6 meses.

El plasma puede centrifugarse nuevamente, antes de ser congelado, para asegurar que todas las células han sido extraídas. Las muestras deben ser descongeladas rápidamente y analizadas de inmediato. Evitar el contacto de las muestras con material de vidrio. Las muestras no deben ser incubadas a 37°C más de 5 minutos para evitar la pérdida de actividad de los factores V y VII. La pérdida del factor V puede prolongar el tiempo de protrombina.

INTERFERENCIAS

- El tiempo de formación del coágulo puede incrementarse por diversas sustancias, tales como el EDTA, corticosteroides, contraceptivos orales, asparaginasa, dioxibato, eritromicina, tetraciclina, etanol, y los anticoagulantes heparina y cumadina.
- El tiempo de protrombina puede reducirse por la acción de antihistaminicos, butabarbital, fenobarbital, cafeína, vitamina K, y contraceptivos orales¹⁰.

EQUIPO ADICIONAL

- Coagulómetro o cronómetro y baño a 37°C ± 0,5°C.
- Equipamiento habitual de laboratorio

TECNICA

El reactivo puede emplearse en forma manual o con sistemas semiautomáticos de coagulación. Es recomendable realizar la medición por duplicado.

1. Calentar el reactivo reconstituido a 37°C, como mínimo 10 minutos.
2. Pipetear **50 µL** de muestra o plasma control en una cubeta de ensayo.
3. Incubar la muestra a 37°C durante 2 minutos.
4. Rápidamente adicionar **100 µL** del reactivo PT precalentado.
5. Simultáneamente poner en marcha el cronómetro del instrumento y registrar el tiempo de coagulación en segundos.

Para técnicas semi-automáticas, seguir las instrucciones de uso de los instrumentos empleados.

CALCULOS

Calcular el tiempo de coagulación promedio de los duplicados de las muestras y controles. La diferencia entre duplicados debe ser inferior al 5%. Repetir la prueba si es superior.

El Tiempo de Protrombina puede ser expresado según lo indicado:

1. Segundos, tiempo de coagulación observado.
2. Tasa de PT:

$$\text{Tasa de PT (PR)} = \frac{\text{PT del paciente en segundos}}{\text{PT de plasma normal en segundos}}$$

QUALITY SYSTEM CERTIFIED
 ISO 9001 ISO 13485



LINEAR CHEMICALS S.L. Joaquim Costa 18 2ª planta. 08390 Montgat, Barcelona, SPAIN
 Telf. (+34) 934 694 990 Fax. (+34) 934 693 435. website www.linear.es



Tiempo de Trombina

Para la determinación del tiempo de trombina

SIGNIFICACION CLINICA

El tiempo de trombina es parte de las pruebas de screening coagulométricas que se emplean en la localización de la causa de un desorden hemostático.

Al producirse un trauma o injuria vascular, la trombina formada escinde al fibrinógeno soluble en monómeros de fibrina que polimerizan espontáneamente y luego son estabilizados dando lugar a la malla insoluble de fibrina.

El tiempo de trombina evalúa esta última etapa de la coagulación, es decir, la conversión del fibrinógeno a fibrina. Por lo tanto, la anomalía en el nivel funcional del fibrinógeno, la presencia de sustancias que interfieran en la acción de la trombina sobre el fibrinógeno (heparina, hirudina) o las que bloquean la polimerización de los monómeros de fibrina (PDF/pdf, paraproteínas) conducen a un prolongamiento del test Tiempo de Trombina. Esta determinación no detecta deficiencias del factor XIII.

Entonces, la alteración del test de Tiempo de Trombina puede deberse a: desórdenes cualitativos o cuantitativos del fibrinógeno, actividad fibrinolítica aumentada, terapias con anticoagulante, terapias fibrinolíticas, etc.

FUNDAMENTO DEL METODO

Este ensayo se basa en la medida del tiempo que tarda en coagular un plasma descalcificado, colocado a 37°C y en presencia de una solución de trombina de actividad fija.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: viales conteniendo trombina bovina liofilizada (aproximadamente 8.0 Unidades NIH/vial) con buffer y estabilizantes.

REACTIVOS NO PROVISTOS

Agua bidestilada o desionizada.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Cada vial de Reactivo A puede ser reconstituido de dos formas diferentes, según sea la utilidad analítica requerida:

Volumen de reconstitución	Unidades de Trombina
2 ml	4.0 UNIH/ml
3 ml	2.7 UNIH/ml

Reconstitución: quitar el precinto metálico y abrir el vial, retirando lentamente el tapón de goma para evitar pérdidas del material.

Agregar el volumen de agua bidestilada o desionizada indicado más arriba. Tapar, dejar reposar 30 minutos y luego mezclar suavemente (sin agitar) hasta obtener disolución completa antes de su uso. Fechar.

Se recomienda mantener el Reactivo A en el frasco original luego de su reconstitución y durante su uso.

PRECAUCIONES

El Reactivo A es para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivo Provisto: estable en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Reactivo A reconstituido: estable 7 días en refrigerador (2-10°C). Para una conservación más prolongada puede ser conservada a -20°C durante 30 días en su frasco original o en alícuotas fraccionadas en Eppendorf o tubos de plástico. Para descongelarla, hacerlo rápidamente a 37°C. No volver a congelar. Evite calentamientos prolongados.

Para optimizar la estabilidad del reactivo se recomienda, una vez finalizado su uso, tapar el reactivo y conservarlo refrigerado (2-10°C) en su vial original.

MUESTRA

Plasma

a) Recolección: obtener sangre cuidadosamente, evitando estasis o espuma y colocarla en un tubo con anticoagulante en proporción 9+1 exacta (ejemplo: 4.5 ml de sangre + 0.5 ml de anticoagulante). Mezclar suavemente. Centrifugar y separar el plasma antes de los 30 minutos. La extracción se debe efectuar con jeringas plásticas.

b) Aditivos: para obtener el plasma debe emplearse **Anticoagulante TP** de Wiener lab. o citrato de sodio 3,8% o 3,2%. No debe emplearse EDTA o heparina.

c) Sustancias interferentes conocidas: el reactivo utilizado en forma manual, no presenta interferencias por: bilirrubina hasta 20 mg/dl, triglicéridos hasta 2000 mg/dl ni hemoglobina hasta 250 mg/dl.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Tubos de hemólisis.