



EL SABER DE MIS HIJOS
HARA MI GRANDEZA

UNIVERSIDAD DE SONORA

UNIDAD REGIONAL SUR

DIVISIÓN DE CIENCIAS E INGENIERIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

**“HEMOFILIA, CLASIFICACIÓN, DIAGNOSTICO
Y MONITOREO POR EL LABORATORIO”**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO BIÓLOGO CLÍNICO

PRESENTAN:

**Cecilia Cristal Alvarado Zayas
Armando Agustín Anguamea García**

NAVOJOA, SONORA

DICIEMBRE DE 2014

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

APROBACIÓN

Los miembros del jurado asignado para revisar la Tesis Profesional de Cecilia Cristal Alvarado Zayas y Armando Agustín Anguamea García, le han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el título de Químico Biólogo Clínico.



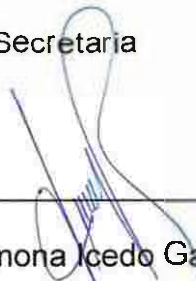
Q.B. Manuel Ignacio Imay Jacobo

Director de Tesis



M.C. Rosa Amelia Vázquez Curiel

Secretaria



M.C. Ramona Icedo García

Vocal

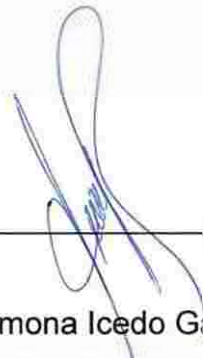
Q.B. Martín Gustavo Echeverría Jacobo

Suplente

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del tutor, siempre y cuando se dé el crédito correspondiente. Para la reproducción parcial y total de todas las tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del jefe del Departamento de Ciencias Químico Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Sonora, Unidad Regional Sur.

La publicación son comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en este trabajo de tesis, deberá dar los créditos a la Universidad de Sonora, previa aprobación escrita el manuscrito en cuestión del director de la tesis.

A handwritten signature in blue ink, consisting of several loops and a long horizontal stroke, positioned above a solid horizontal line.

M.C. Ramona Icedo García
Jefe del Departamento de Ciencias Químico Biológicas y Agropecuarias

DEDICATORIAS

Mi tesis la dedico con todo mi cariño y mi amor para todas las personas que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, por motivarme y darme la mano cuando más lo necesite y me encontraba decaído, a ustedes por siempre mi corazón y mi cariño y mi agradecimiento.

Familia.

Armando Agustín.

DEDICATORIA

Dedico mi tesis con todo mi amor a mis padres, hermanos y amigos que siempre estuvieron ahí para apoyarme y con su amor motivarme cada día para seguir adelante.

Cecilia Alvarado

AGRADECIMIENTOS

A Dios que me dio la oportunidad de vivir y de regalarme una familia maravillosa. Agradezco a mis padres que me dieron la vida y que han estado conmigo en todo momento, educándome, guiándome por el buen camino luchando junto a mí. Gracias por todo papá y mamá por darme una carrera para mi futuro y por creer en mí. Aunque hemos pasado momentos difíciles siempre han estado apoyándome y brindándome todo su amor y cariño, por todo esto agradezco de todo corazón que estén conmigo y a mi lado.

A mis hermanas Dulce y Cristina. Gracias por cuidarme y estar conmigo siempre en esos momentos de alegría y tristeza.

A mis sobrinas Michel y Estrella aunque a un son pequeñas gracias por darle la alegría a mis hermanas y por hacer crecer la familia.

A mis abuelos donde quiera que estén yo sé que están orgullosos de mí por haber salido adelante. Gracias por la educación y la humildad que me dio abuelo por enseñarme a trabajar y valerme por mí solo gracias a ti.

A mis abuelas por apoyarme en todo, sobre todo en mi educación y que siempre estuvieron para mí.

Gracias a todos mis maestros por los conocimientos que me dieron desde el preescolar hasta la universidad.

Gracias al director de la tesis Q.B. Manuel Ignacio Imay Jacobo y a los maestros sinodales.

Gracias a todos mis amigos que estuvieron conmigo y que creyeron en mí, y en alguien muy especial muchas gracias por apoyarme en lo que se pudiera porque sin ese apoyo no se hubiera logrado muchas gracias.

Armando Agustín

AGRADECIMIENTOS

Principalmente agradezco a Dios por siempre estar conmigo y haberme dado la sabiduría, el entendimiento y la fortaleza para poder llegar al final de mi carrera, por no haber dejado que me rindiera en ningún momento e iluminarme para salir adelante.

Agradezco a mis padres que me dieron la vida y por estar ahí cada momento, guiándome paso a paso con su amor. Por darme una carrera para salir adelante y por creer cada día en mí.

Pero principalmente agradezco a mi mamá por sus consejos por saber hacer de mí una mejor persona, por darme las alas y déjame volar y cada golpe estar ahí y con tu cariño motivarme cada día para seguir adelante por enseñarme tres palabras claves en la vida tolerancia, humildad y amor. Por enseñarme que no hay límites, que lo que me proponga lo puedo lograr y que solo depende de mí.

A mis hermanos Antonio y Daniela por siempre estar ahí, por cuidarme y darme siempre su amor.

A Bombón, Mayita y Toshi por llegar a nuestras vidas y ser la alegría de la casa.

A mi abuela y tías por ser parte de mi familia y siempre estar ahí.

Rosario gracias por tu apoyo incondicional, por siempre estar ahí, por ser más que una hermana y por tu amor incondicional te quiero.

A Valeria y Tere por ser como mis hermanas, por apoyarme en cada momento, animarme cuando las cosas no van bien y darle otro sabor a mi vida.

A cada uno de mis maestros por el apoyo a lo largo de mi estancia en la universidad en especial al Q.B. Manuel Ignacio Imay Jacobo y los maestros sinodales por el apoyo en la tesis profesional.

Cecilia Alvarado

CONTENIDO

APROBACIÓN	I
DECLARACIÓN INSTITUCIONAL	II
AGRADECIMIENTOS	III
DEDICATORIAS	V
CONTENIDO	VII
LISTA DE TABLAS	IX
LISTA DE FIGURAS	X
OBJETIVO GENERAL	XI
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	XII
INTRODUCCIÓN	1
SISTEMA DE COAGULACIÓN	3
HEMOFILIA	7
Clasificación de las Hemofilia	7
Hemofilia A	7
Hemofilia B	9
Hemofilia C	10
Factores que Afectan el Proceso de Coagulación en la Hemofilia	11
Aspectos Genéticos	12
Herencia	13
Enfermedad de von Willebrand	19
Manifestaciones Clínicas	20
Hemorragia en los Músculos	21
Hemorragia en una Articulación	23
	VII

Hemorragia por Lesiones o Hemorragia Cerebral	25
Hemorragia Postoperatoria	25
Hemorragias Bucales	28
Otras fuentes de Hemorragias	30
Pseudotumor Hemofilico	31
DIAGNÓSTICO CLÍNICO	34
PRUEBAS DE LABORATORIO	37
Pruebas de Escrutinio	41
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	44
BIBLIOGRAFÍA	45
GLOSARIO	48
ANEXOS	51

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1	Pruebas de coagulación para clasificación de deficiencia de sus factores	36
2	Pruebas de hemostasia. Hemofilia A, B y Enfermedad de von Willebrand	43

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Cascada de coagulación	6
2	Patrón de herencia en hemofilia	16
3	Cariotipo humano normal. Los cromosomas X e Y forman el par 23, y son los llamados cromosomas sexuales o heterocromosomas	17
4	Esquema de herencia de una mujer	18
5	Moretones por accidentes	22
6	A. Principales sitios de hemorragia en las articulaciones B. El proceso de afección articular crónica	24
7	Hemorragias cerebral	26
8	Hemorragias posoperatorias	27
9	Hemorragia bucal causada por hemofilia	29
10	Destrucción de tejidos blandos	33
11	Método original de la Dra. Kasper para la detención de inhibidores	39
12	Prueba modificada de Nijmegen	40

OBJETIVO GENERAL

Describir la importancia de la hemofilia, diagnóstico y monitoreo por el laboratorio.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir la hemofilia y los factores que intervienen para su manifestación clínica.
- Describir las pruebas de laboratorio para el diagnóstico de hemofilia.

INTRODUCCIÓN

La hemofilia es una enfermedad devastadora de origen genético, recesivo y ligado al cromosoma X, en el cual se encuentran los genes que codifican los factores hemostáticos VIII, IX y XI de los 12 factores del sistema coagulación del cuerpo humano que colaboran en conjunto para el proceso de coagulación de la sangre (Liras, 2014).

Algunas alteraciones estructurales o moleculares de dichos genes, condicionan una deficiencia cuantitativa o funcional del factor VIII (FVIII) en la hemofilia A, llamada también hemofilia clásica; así como el factor IX (FIX) en la hemofilia B o también llamada enfermedad de Christsmas, la cual es heredada en un 70% de los casos y el 30% es consecuencia de una mutación novo que heredara a su descendencia con el mismo patrón recesivo (Arranz P., *Et al.*, 1996).

Hay tres tipos de hemofilia en la actualidad, la hemofilia A, la hemofilia B y la hemofilia C; siendo la más común la hemofilia A y la que menor se presenta es la hemofilia C (Giangrande, 2012).

La hemofilia solo se manifiesta en varones y en el caso de las mujeres generalmente cursan asintomáticas, debido a que posee otro cromosoma X sano que compensa la función del factor afectado (Lavaut, 2013).

La prevalencia mundial aproximada de hemofilia A se presenta en 1 caso de cada 10,000 varones siendo el 80% de todos los casos y 1 caso de cada 50,000 varones siendo entre el 20 y 25% de los casos de hemofilia B.

En México en el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) atiende al 68% de los pacientes el 32% está a cargo de la Secretaría de Salud (Federación de Hemofilia de la República Mexicana; García, *Et al.*, 2013).

A pesar que la hemofilia tiene una prevalencia baja, su impacto es bastante alto en la sociedad y en los sistemas de salud de nuestro país, ya que presentan limitaciones en todos los aspectos de su vida biológica, psicológica y social de quienes padecen este problema, motivo por el cual es de relevancia su diagnóstico y monitoreo por el laboratorio.

SISTEMA DE COAGULACIÓN

El proceso de coagulación implica toda una serie de reacciones enzimáticas encadenadas de tal forma que actúan como una avalancha, amplificándose en cada paso.

Los factores de la coagulación, se enumeran con números romanos, y son:

I: Fibrinógeno, proteína soluble del plasma

II: Protrombina, está pegada a la membrana plaquetaria (Sustancias Adsorbidas).

III: Factor tisular, se libera del endotelio vascular a causa de una lesión

IV: Calcio

V: Proacelerina, (factor lábil) pegada a la membrana plaquetaria

VI: No existe. Existe un "Factor" que actúa más bien como un cofactor para la coagulación que es el factor de Von Willebrand, el cual forma un puente entre las fibrinas de colágeno y los receptores plaquetarios Ib/V/IX (Glicoproteínas) para iniciar el proceso de adhesión plaquetaria.

VII: Proconvertina (Factor estable)

VIII: Factor antihemofílico A, está pegado a la membrana plaquetaria

IX o Factor Christmas: o beta adrenérgico (también llamado antihemofílico B), está pegado a la membrana plaquetaria

X: Factor de Stuart-Prower, está pegado a la membrana plaquetaria

XI: Factor antihemofílico C

XII: Factor de Hageman

XIII: Factor estabilizante de la fibrina

La hemostasia es un mecanismo de defensa que protege al organismo de las pérdidas sanguíneas que se producen tras una lesión vascular. Clásicamente se ha dividido en hemostasia primaria, en la que participan fundamentalmente las plaquetas a través de procesos de adhesión, reclutamiento, activación y agregación para formar el tapón hemostático plaquetario inicial, y la fase de activación sanguínea (hemostasia secundaria).

La deficiencia o anomalía del sistema hemostático conlleva una tendencia hemorrágica (ejemplo: hemofilia), mientras que una activación excesiva puede resultar en trombosis que cierra la luz del vaso sanguíneo (ejemplo: trombosis venosa) (Páramo, 2009).

La cascada de la coagulación se divide para el estudio en tres vías: la vía intrínseca, la vía extrínseca y la vía común.

La cascada de la coagulación da inicio cuando el tejido dañado libera el factor III o tromboplastina, el factor III activado junto con iones calcio activará al factor VII iniciando el mecanismo extrínseco (Izenberg, 2004). Por otro lado el factor XII activa al factor XI que a su vez activa al factor IX junto con el cofactor VIII esto inicia el mecanismo intrínseco. Tanto el factor VII como el factor IX promueven una reacción en cascada activando eventualmente al factor X. El factor X permite que el factor III, V, calcio y factor de tromboplastina (PF_3) activará a la protrombina. El activador de protrombina convierte a la protrombina en trombina. La trombina convierte al fibrinógeno en fibrina. La fibrina inicia la formación de

una masa laxa para luego el factor VIII promueva los enlaces covalentes que estabilizan la fibrina en fibras densas y luego los eritrocitos se aglutinen en la fibrina y se forme el coagulo (Figura 1).

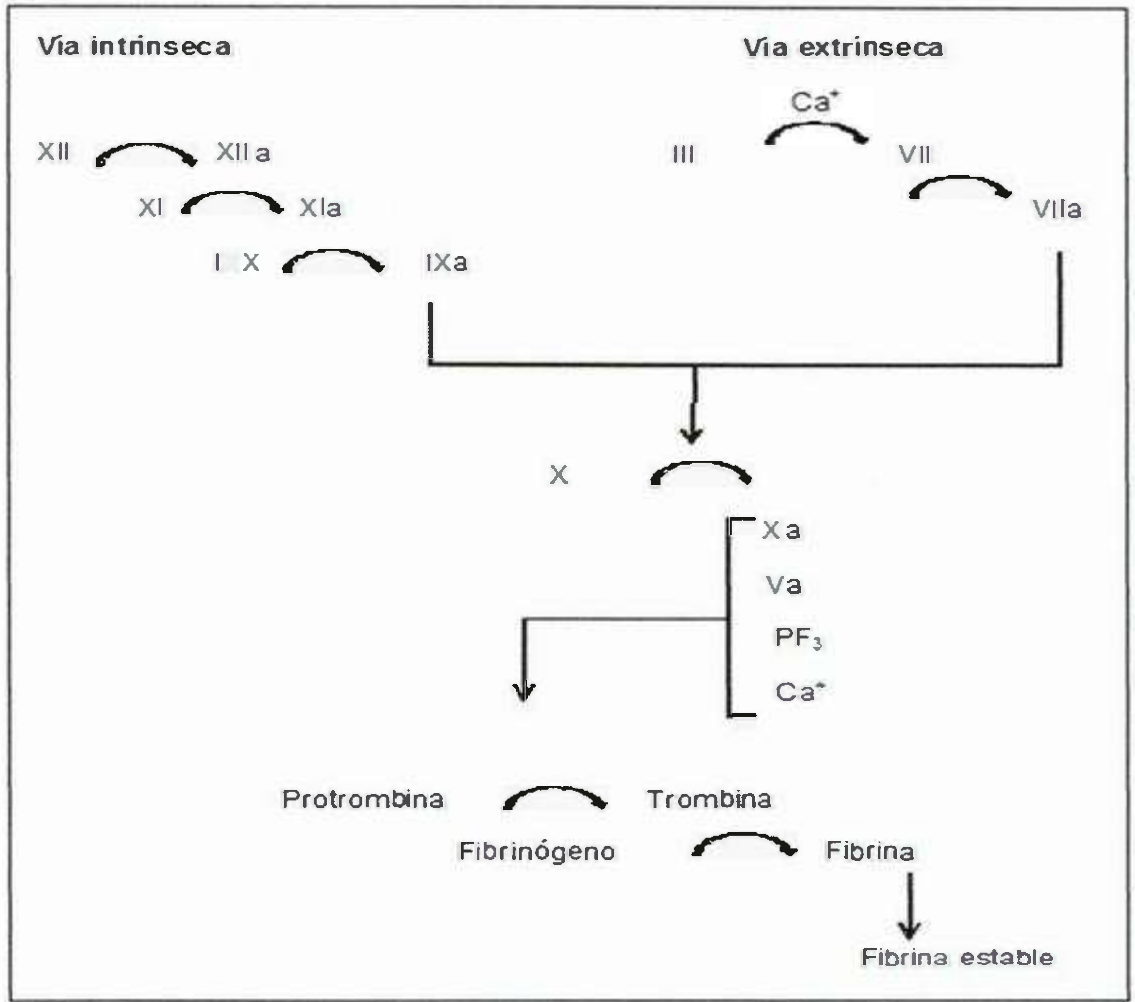


Figura 1. Cascada de coagulación (Liras, 2014).

HEMOFILIA

La hemofilia es una enfermedad genética que consiste en un déficit en el sistema de coagulación que impide que la sangre se coagule adecuadamente. Este se caracteriza por la aparición de hemorragias internas y externas debido a un déficit parcial de una proteína coagulante denominada globulina antihemofílica, que se encuentra como factor de coagulación. Los factores de coagulación son un grupo de proteínas responsables de activar el proceso de coagulación, estos actúan en cascada; es decir, una activa a la siguiente; si hay un déficit de un factor, no se produce la coagulación o se tarda el proceso.

La mayoría de las personas considera naturales ciertas funciones orgánicas como la respiración, la digestión y la cicatrización de heridas. Sin embargo para los afectados de hemofilia tipo A, B o C, una cosa tan sencilla como la cicatrización de una herida es difícil, incluso puede ocasionar la muerte. Esto sucede porque la sangre de estas personas no coagula normalmente; y sin la coagulación cualquier herida sangrara sin parar (Oliva, *Et al.*, 2008).

Clasificación de la Hemofilia

La hemofilia se clasifica según el factor de deficiencia, deficiencia del factor VIII (hemofilia A), deficiencia del factor IX (hemofilia B) y la deficiencia del factor XI (hemofilia C).

Hemofilia A

La hemofilia A o hemofilia clásica es la forma más común, y es consecuencia de déficit del factor VIII de la cascada de coagulación. El gen afectado está localizado en el cromosoma X, generalmente son los varones los afectados de

la mutación, y las mujeres son las portadoras. Las mujeres pueden estar afectadas en los casos infrecuentes en que hayan alteraciones del genoma X o bien cuando coincidan dos alelos mutantes (Oliva, *Et al.*, 2008).

En la actualidad, no se conoce con exactitud todos los órganos y tejidos responsables de la síntesis del factor VIII. Los trasplantes de hígado en personas afectadas de déficit del factor evidencian que el hígado sintetiza el factor VIII. Habiendo detectado el ácido ribonucleico mensajero (ARNm) en los hepatocitos. Aunque el gen responsable de codificar el factor VIII se haya ubicado en el extremo del brazo largo del cromosoma X. La observación de la expresión de factor VIII en otros órganos, como el bazo, el riñón y los linfocitos, indica la existencia de otros sitios potenciales de síntesis. Estos otros lugares de producción podrían desempeñar un papel importante en los casos de insuficiencia hepática (Díaz, 2001).

Si bien antes se consideraba una enfermedad letal, la terapéutica sustitutiva (ya sean hemoderivados plasmáticos o concentrados de factor VIII), ha supuesto un gran avance en términos de esperanza y calidad de vida. Sin embargo, dicho tratamiento evidencio el riesgo de transmisión de enfermedades (hepatitis y SIDA, entre las más notables) hasta la utilización de los métodos de inactivación viral y concentrados recombinantes de factor VIII. En la actualidad, la aparición de inhibidores contra el factor VIII constituye uno de los mayores problemas terapéuticos. Alrededor del 15% de los casos de hemofilia A producen anticuerpos (actividad inhibidora) a la infusión de factor VIII. Históricamente la detección de portadoras se basaba a partir del árbol familiar y de las tasas de factor VIII activo, factor de von Willebrand. Este análisis hacía posible predecir el genotipo de un 70 a 95% de las portadoras potenciales.

En el pasado, el diagnóstico prenatal dependía de la medida de los factores de la coagulación en plasma fetal, obtenido por fetoscopia. Sin embargo, la identificación del gen del factor VIII ha facilitado el análisis de ligamiento para detección de portadoras y diagnóstico prenatal (Takedani, 2010).

Hemofilia B

La hemofilia B o enfermedad de Christmas es el déficit congénito de factor IX o deficiencia del componente de la tromboplastina (CTP) (Saens, 2001).

El factor IX es una glicoproteína que es sintetizada en el hígado en forma de una única cadena polipeptídica. Requiere de varias modificaciones probablemente en el retículo endoplasmático para la expresión final de la proteína madura, que es excretada a través del aparato de Golgi a la circulación. En algunas de ellas, el defecto específico ha ocasionado un fenotipo de hemofilia B con determinadas características diferenciales. La hemofilia B constituye un grupo heterogéneo que se caracteriza por un alargamiento del tiempo de coagulación en presencia de tromboplastina humana. Las variantes de hemofilia B se hallan en alrededor del 5% de la población con hemofilia B (Guisar, 2001).

La hemofilia B es el resultado del déficit o alteración de un factor de coagulación dependiente de la vitamina K: el factor IX. Como en el caso de la hemofilia A, se trata de una enfermedad hereditaria que se transmite ligada al cromosoma X. Su incidencia es menor que la hemofilia A, siendo aproximadamente 1 de cada 30.000 varones nacidos. La importancia clínica patológica, social y económica de esta enfermedad puede compararse en muchos aspectos a la hemofilia A. Es así que la edad de las manifestaciones hemorrágicas en los pacientes con hemofilia B está relacionada con los niveles plasmáticos del factor IX (Schulman, 2004).

Hemofilia C

La hemofilia C o deficiencia de la tromboplastina plasmática (ATP, factor XI) constituye una diátesis hemorrágica de gravedad leve a moderada, es de carácter autosómico recesivo (Corea, 2003).

En caso de la deficiencia del factor XI es prolongado y el tiempo de protrombina es normal. Al igual que los pacientes con hemofilia A o B tienen hemorragias pero no presenta hemorragias excesivas (Kasper, 2008).

Además, según el nivel de factor deficiente, la hemofilia se clasifica según el grado de afectación:

Hemofilia leve: En la hemofilia cuando el rango de actividad del factor VIII, IX o XI es entre el 6 y el 50% se dice que es leve, la hemorragia se asocia habitualmente solo con traumatismos, intervenciones quirúrgicas o extracciones dentales. El diagnóstico puede no hacerse hasta la edad adulta cuando aparece una hemorragia abundante inexplicable tras una de estas lesiones.

Hemofilia moderada: En la hemofilia cuando el rango de actividad del factor VIII, IX o XI es entre el 1 y el 5%. Las hemorragias aparecen tras pequeñas lesiones advertidas, así como otras operaciones y extracciones dentales.

Se caracteriza por no haber sangrado espontáneo. Casi siempre hay un antecedente traumático en mayor o menor grado. Puede diagnosticarse a cualquier edad. Suele ser frecuente cuando se realiza la historia encontrar con un sangrado anterior que no fue debidamente investigado pero que llamó la atención, tales como hematomas en glúteos tras inyecciones intramusculares. Su frecuencia de sangrado puede ser una vez al mes, sin embargo varía de

unas personas a otras que posee una hemofilia moderada puede sangran espontáneamente.

Hemofilia severa: En la hemofilia cuando el rango de actividad del factor VIII, IX o XI es del 1% o menor con mínimas o no evidentes lesiones aparecen hemorragias en articulaciones, músculos y otros tejidos (hemorragias espontáneas), así como con cirugía y extracción dental.

El dato característico más importante es el sangrado espontáneo. Suele presentarse en edad temprana; la mayoría de los pacientes graves son diagnosticados antes del primer año de vida, bien al nacimiento si ya había antecedentes familiares o bien en el periodo perinatal por sangrados graves.

También muchos pacientes son diagnosticados por sangrados en los lugares de punción, en el talón cuando se realizan pruebas metabólicas, vacunas o por analíticas practicadas por patología no relacionada con la coagulopatía (Giménez, 2008).

Factores que Afectan el Proceso de Coagulación en la Hemofilia

La deficiencia cuantitativa o cualitativa del factor VIII, IX o XI de coagulación se traduce como un defecto en los mecanismos de activación de la coagulación (SIIC, 2001).

Normalmente el factor VIII, IX, o XI de la coagulación participan de manera conjunta integrando un poderoso complejo de activación del factor X, estos tres factores participan como una fase de sostén o mantenimiento de la coagulación, después que el complejo de factor VII factor tisular ha iniciado la activación del factor X de coagulación. El factor VIII, IX y XI se traduce en un retraso de la

formación del coágulo, considerando que la fase inicial de activación de la coagulación dependiente del complejo de factor VII de coagulación o factor tisular, se encuentra bloqueada por el inhibidor de la vía del factor tisular (IVFT), esto provoca que la formación del polímero de fibrina se efectúe de manera tardía y clínicamente predisponga al paciente a hemorragias.

El factor VIII está compuesto por dos fracciones diferentes, una que contiene el antígeno y el factor de Willebrand y otra que contiene la fracción pro coagulante. La síntesis de la fracción pro coagulante que se hace principalmente en el hígado, pero también en el pulmón, el bazo y ganglios linfáticos, es codificada por el brazo largo del cromosoma X. La síntesis del factor von Willebrand que se hace en las células endoteliales, plaquetas y en los megacariocitos, es codificada por el cromosoma doce. El factor Von Willebrand es compleja, la proteína madura se almacena en los cuerpos de las células endoteliales y puede ser liberado al torrente circulatorio tras estímulos apropiados (Liras, 2014).

Aspectos Genéticos

La hemofilia A, B y C son transmitidas como un carácter autosómico ligado al género, pero hay hasta 30% de los individuos afectados sin tener antecedentes familiares de hemofilia. Los varones que carecen del alelo normal tienen hemofilia y no transmite la enfermedad a sus hijos, pero si a todas sus hijas, las cuales serán portadoras, dado que heredan el cromosoma X anormal del padre. La mujer portadora puede transmitir la enfermedad a la mitad de sus hijos y el estado de portadora a la mitad de sus hijas. En casa de una familia de tener cuatro hijos dos hombres y dos mujeres pues un hombre será hemofílico y una mujer será portadora mientras que otros dos serán sanos (Lavaut, 2013).

El estado de portadora de hemofilia A puede ser detectado en laboratorios especializados, por medio de análisis basados en la reacción entre la fracción pro coagulante y el factor von Willebrand y por el análisis genético. El estado de hemofilia B es más difícil, pero se siguen en general el mismo patrón de análisis: la reacción entre la fracción pro coagulante y material antígeno (Bruce, 1999).

El diagnóstico prenatal se hace en centros de recursos muy especializados, mediante el uso de técnicas de biología molecular en material obtenido por amniocentesis (después de quince semanas de gestación) o por biopsia de vellosidades coriónicas (diez a doce semanas de gestación). También hay técnica de medir factor VIII (TTPa) en una muestra de sangre fetal de cordón umbilical, a la semana veinte de gestación.

Las alteraciones que afectan al factor VIII de la coagulación producen hemofilia A o clásica, la deficiencia del factor IX de la coagulación determinan la hemofilia B o enfermedad de Christmas. El gen que codifica para ambos defectos se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma X, en regiones cercanas, pero totalmente diferentes (Correa, 2003).

Herencia

Debido a la codificación genética de la molécula de factor VIII, IX o XI la enfermedad tiene una herencia ligada al cromosoma X, es decir que las mujeres portan la enfermedad y los hombres la manifiestan. Esto significa que los hijos de una mujer portadora tienen 50% de las probabilidades de tener el gen anormal. Aproximadamente entre el 70 al 75% de los hemofílicos tienen antecedentes familiares de la enfermedad, esto significa que aproximadamente entre el 25 y 30% de los casos presentan una mutación de nueva.

El primer paso en el estudio de posibles portadoras es la correcta elaboración del “árbol genealógico”, o genealogía de una familia en la que existen pacientes hemofílicos. Esto permite ubicar a cada una de las mujeres y valorar, según la relación de parentesco con los varones afectados, sus probabilidades teóricas de ser portadora. Así, se puede hablar de:

Portadoras obligadas: Aquellas que con seguridad son portadoras (todas las hijas de un varón afectado de Hemofilia; las mujeres con más de un hijo hemofílico, excepto por embarazo gemelar, y las mujeres con un hijo hemofílico que tengan, además, antecedentes de otros varones hemofílicos por vía materna como hermanos, tíos, etc).

Portadoras posibles: Aquellas que pueden serlo por el árbol genealógico familiar, pero que no existe certeza completa (las mujeres con un solo hijo hemofílico y sin antecedentes familiares; todas las hijas de una mujer “portadora obligada”; todas las mujeres con antecedentes familiares de Hemofilia por vía materna).

De acuerdo a su forma de herencia se puede concluir que:

1. Todas las hijas de un hemofílico son portadoras obligadas.
2. Todos los hijos de un hemofílico son normales.
3. Aproximadamente la mitad de las hermanas de un hemofílico serán portadoras.
4. Aproximadamente la mitad de los hijos de una portadora serán hemofílicos.

Aproximadamente la mitad de las hijas de una portadora serán portadoras (Figura 2) (Ruiz, 2009).

Por otra parte, el peculiar patrón de herencia se debe a que los genes que producen los factores VIII y IX están localizados en el cromosoma X (más precisamente en el brazo largo de dicho cromosoma, Xq28 el gen factor VIII y

Xq27 gen factor IX que forma parte del par 23 que condiciona el sexo (masculino o femenino) (Figura 3) (Campbell, 2007).

Por otro lado, la presencia de hemofilia en las mujeres solo se presenta en los siguientes casos:

1. Lyonización extrema al azar
 2. Hijas de padre hemofílico y madre portadora
 3. Asociación de la enfermedad con síndrome de Turner
- (Figura 4) (Ruiz, 2009).

En las células de los seres humanos se encuentran 23 pares de cromosomas: 22 pares de cromosomas autosómicos y el par 23 donde se determina el sexo, sumando un total de 46 cromosomas en cada célula. En los cromosomas del par 23 de los varones, hay un cromosoma X y un cromosoma Y, mientras que en las mujeres tienen dos cromosomas X. El descendiente masculino hereda el cromosoma X de la madre y el cromosoma Y del padre, mientras que la descendiente femenina hereda un cromosoma X de la madre y uno del padre (Jiménez, 2003).

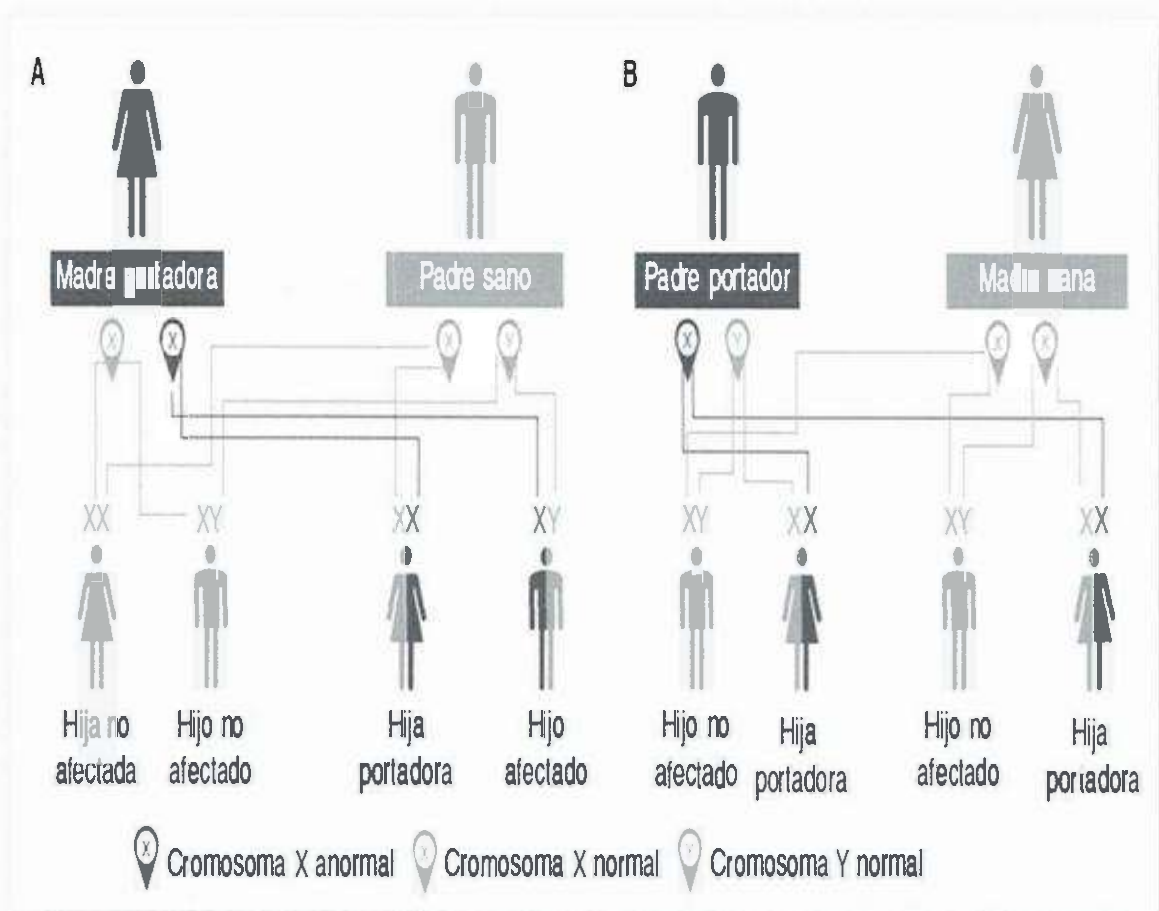


Figura 2. Patrón de herencia en hemofilia (García, *Et al.*, 2013).

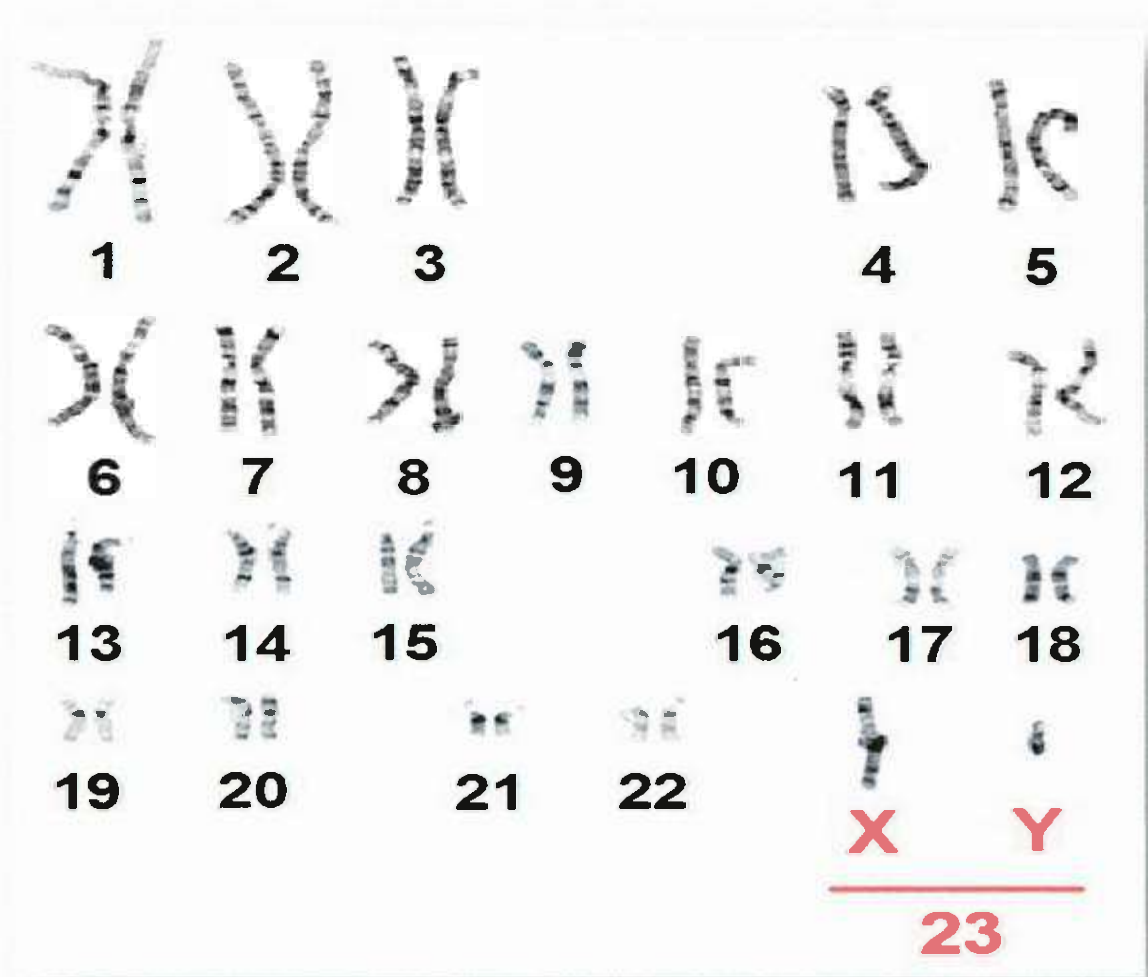


Figura 3. Cariotipo humano normal. Los cromosomas X e Y forman el par 23, y son los llamados cromosomas sexuales o heterocromosomas (Campbell, 2007).

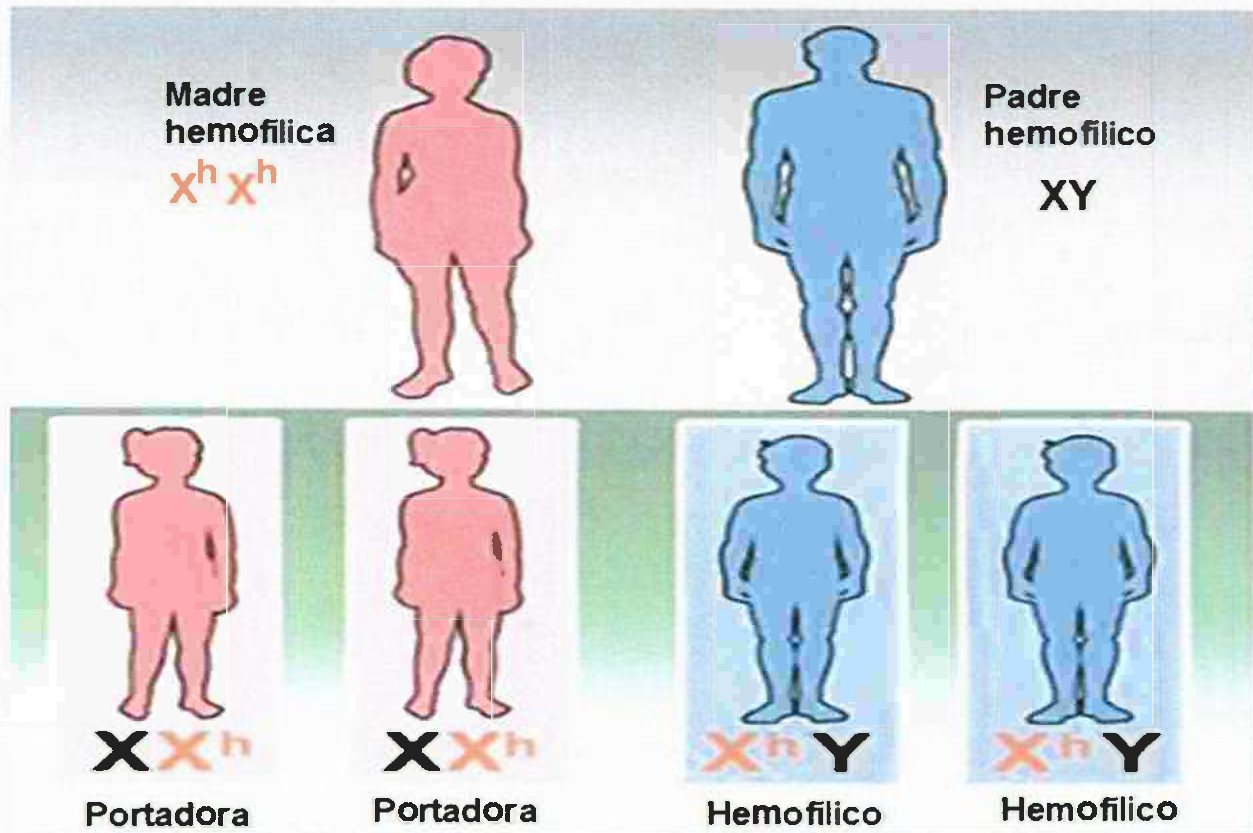


Figura 4. Esquema de herencia de una mujer hemofílica (Ruiz, 2009).

Enfermedad de von Willebrand

La enfermedad von Willebrand (EvW) es el trastorno de coagulación hereditario más común. A diferencia de la hemofilia, que está vinculada con el cromosoma X y que por lo general sólo afecta a varones, la EvW generalmente se hereda de manera autosómica y por lo tanto es posible que afecte tanto a varones como a mujeres.

La enfermedad es causada por la reducción o anomalía de una glicoproteína de la sangre (llamada factor von Willebrand (FvW) que es necesaria para que las plaquetas se adhieran a las paredes de los vasos capilares. Debido a que esta proteína también sirve como transportadora y estabilizadora del FVIII, la actividad del FVIII en la sangre algunas veces se encuentra disminuida en proporción a la reducción la medición de la actividad del FvW.

En general, las personas con síntomas de EvW presentan hemorragias en las mucosas (por ejemplo epistaxis, menstruación abundante, hemorragias orales o genitourinarias).

Hay tres tipos de enfermedad de von Willebrand (EvW):

Los pacientes con enfermedad von Willebrand (EvW) tipo 1 padecen la forma más común y leve del trastorno. Tienen niveles reducidos de FvW, pero su estructura y función parecen ser normales.

Los pacientes con enfermedad von Willebrand (EvW) tipo 2 tienen niveles diferentes de FvW, pero la proteína no funciona correctamente, lo que se manifiesta por una actividad funcional menor.

Los pacientes con enfermedad von Willebrand (EvW) tipo 3 se encuentran gravemente afectados porque prácticamente carecen del FvW y tienen una reducción concurrente del FVIII circulante; estos pacientes podrían comportarse como los que padecen hemofilia moderada. Este tipo de EvW debería ser diagnosticado y controlado exclusivamente por un hematólogo especializado en EvW y hemofilia (Schulman, 2004).

Manifestaciones Clínicas

Desde el punto de vista clínico, la hemofilia A, B o C son indistinguibles. Los síntomas pueden manifestarse desde la etapa de recién nacido, en los casos severos, con sangrado prolongado por el cordón umbilical, céfalo hematoma o hemorragia posquirúrgica. La hemorragia del sistema nervioso central ocurre en 1-2% de estos neonatos (Boulevard, 1997).

En el lactante se suele manifestar como pequeños hematomas submucosos cuando se produce la erupción dental. Cuando empiezan a caminar aparecen hematomas en nalgas, rodillas y frente, secundarios a las caídas. Al aumentar la actividad física los hematomas son más profundos y aparecen las hemartrosis (Correa, 2003).

El preescolar y el escolar, fundamentalmente presentan hemartrosis y hematomas. Aparece hematuria. El escolar preadolescente tiene la habilidad emocional y pasa por una etapa de rechazo a la sociedad, en la que se niega inclusive a hacerse terapia de remplazo cuando tiene un evento hemorrágico.

El adolescente tiene todas las hemorragias posibles en su vida de estos pacientes, incluida la que puede ocurrir como resultado de la iniciación de coitos, hemorragia cargada de gran ansiedad. La complicación más frecuente y grave

es la artropatía crónica que es una disfunción notoria en la articulación debida a hemartrosis recidivante, debida a su vez al círculo vicioso de una articulación con minusvalía por el dolor y los cambios tróficos que han producido hemartrosis anteriores. Cuando sucede esto, la hemartrosis ocurre espontáneamente.

El síntoma más común de la hemofilia es la hemorragia incontrolable y excesiva por causa del factor de coagulación que falta o está en bajos niveles en la sangre. Puede producirse una hemorragia incluso cuando no haya ninguna lesión. La mayoría de las veces se produce en las articulaciones y en la cabeza.

Cada individuo puede experimentar los síntomas de la hemofilia de una forma diferente. Los síntomas pueden incluir:

Hemorragia en los Músculos

Pueden producirse moretones por pequeños accidentes, que pueden a su vez generar un hematoma grande. Por ese motivo, en la mayoría de los casos este trastorno se diagnostica entre los 12 y 18 meses de edad, cuando el niño se hace más activo.

La hemorragia en los músculos puede causar hinchazón, dolor y enrojecimiento. La hinchazón por el exceso de sangre en estas zonas puede producir un aumento de la presión en los tejidos y nervios de la zona, provocando daño y, o deformación permanente (Figura 5).



Figura 5. Moretones por accidentes (Giangrande, 2012).

Hemorragia en las Articulaciones

La hemartrosis puede provocar dolor, inmovilidad y, con el tiempo, deformidad si no se realiza el tratamiento médico adecuado. Las articulaciones son los lugares más comunes donde se producen complicaciones debido a la hemorragia por hemofilia. Si estas hemorragias son recurrentes, pueden derivar en artritis crónica y dolorosa, deformidad e incapacidad (Scully, 2008).

La hemartrosis es una de las manifestaciones clínicas más frecuentes en la hemofilia, que afecta principalmente las articulaciones. Los sangramientos intraarticulares recidivantes producen hipertrofia de la sinovial y provocan nuevo sangramiento, con el desarrollo de un ciclo vicioso de hemartrosis-sinovitis-hemartrosis. Todo este cuadro sintomático predispone a un daño articular progresivo, que establece la artropatía crónica degenerativa.

Las hemartrosis recurrentes conducen a una intensa proliferación de la membrana sinovial que produce hemorragias más frecuentes, y finalmente, una sinovitis crónica. Cada nueva hemorragia origina un mayor grado de sinovitis y de contractura en la reflexión de la articulación. De modo progresivo, aparecen atrofia muscular y de ligamentos, estrechamiento de la interlinea articular y destrucción del cartílago (Figura 6) (Saens, 2001).

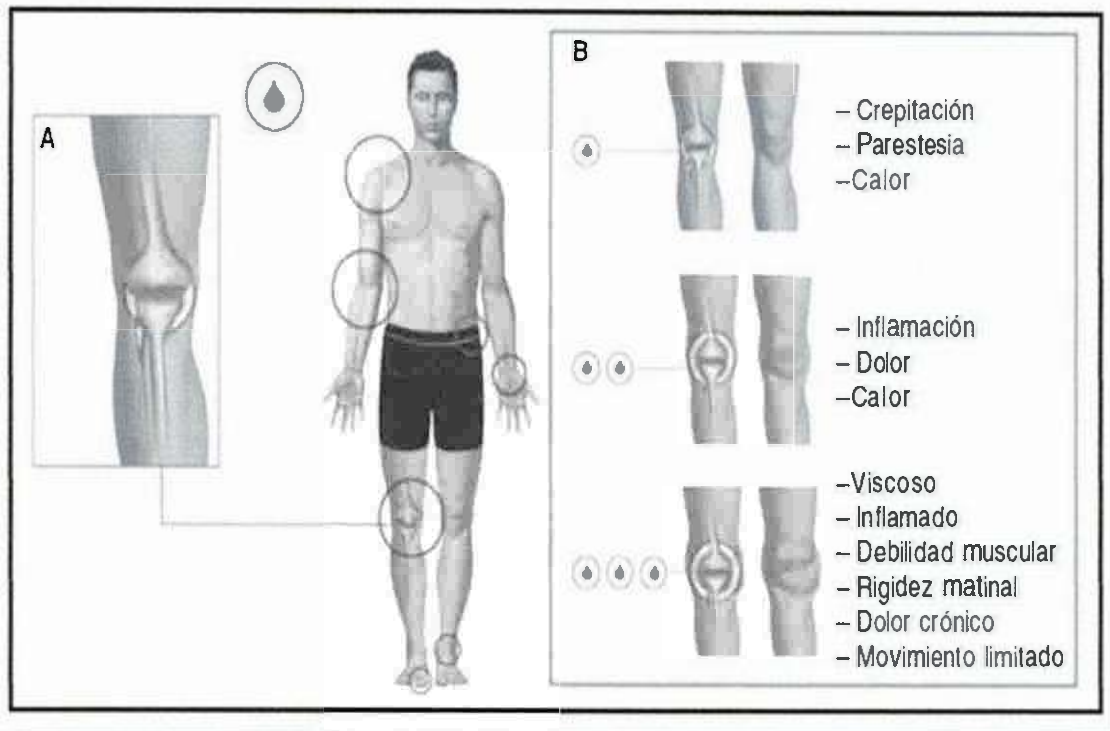


Figura 6 A.- Principales sitios de hemorragia en las articulaciones. B.- El proceso de afección articular crónica (García, *Et al.*, 2013).

Hemorragia por Lesiones o Hemorragia Cerebral

La hemorragia por lesión o espontánea en el cerebro es la causa más común de la muerte en los niños que tienen hemofilia y la complicación hemorrágica más grave. Una hemorragia cerebral puede producirse a partir de una caída o un pequeño golpe en la cabeza. Las hemorragias cerebrales pequeñas pueden ocasionar ceguera, retraso mental y varias deficiencias neurológicas y puede llevar a la muerte si no se diagnostica ni se trata inmediatamente.

La hemorragia intracraneal es la principal causa de muerte de los hemofílicos. Ocurre casi exclusivamente en los pacientes con hemofilia severa. La forma más común del sistema nervioso central es la hemorragia subaracnoida espontánea o postraumática pero puede ocurrir en cualquier sitio o cavidad intracraneana. La edad media de presentación es quince años y es una complicación tan seria que se debe vigilar intrahospitalaria a todo paciente hemofílico que sufra trauma craneal de cualquier magnitud (Figura 7) (Correa, 2003).

Hemorragia Postoperatoria

Se presentan cuando el paciente ha sido intervenido quirúrgicamente sin la adecuada preparación con terapia sustitutiva, esto debido a:

1. Desconocimiento del médico de la enfermedad
2. Paciente hemofílico leve sin diagnóstico previo
3. Presencia de inhibidores

(Figura 8)

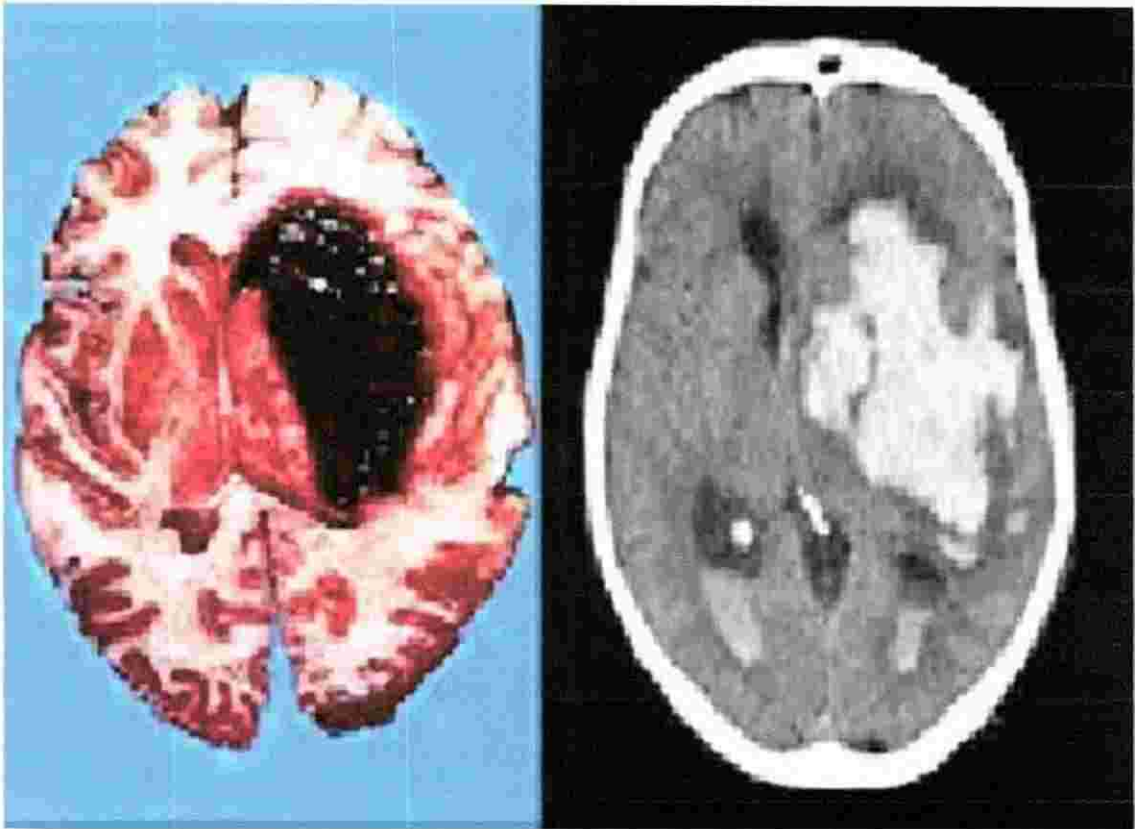


Figura 7. Hemorragia cerebral (Correa, 2003).

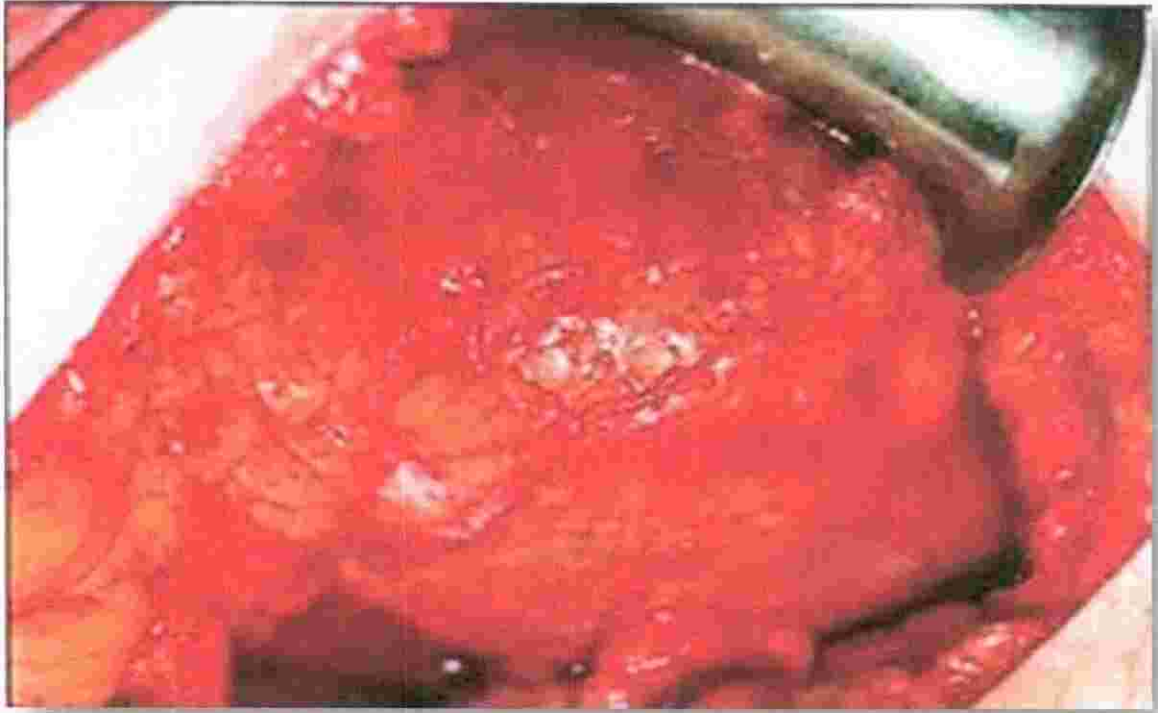


Figura 8. Hemorragia postoperatoria (Ruiz, 2009).

Hemorragias Bucales

La tendencia a sangrar por la boca y las encías por un traumatismo sin importancia, durante el cepillado de los dientes o los tratamientos odontológico a menudo constituye un indicador de hemofilia.

La buena higiene bucal es particularmente importante para los pacientes con hemofilia, sobre todo para prevenir la necesidad de extracciones dentales. En caso de extracciones dentales u otro tipo de procedimientos, tradicionalmente se emplea terapia sustitutiva y la aplicación local de antifibrinolíticos (ácido aminocapróico o tranexámico) (Figura 9) (Ruiz, 2009).



Figura 9. Hemorragia bucal causada por hemofilia (Ruiz, 2009).

Otras Fuentes de Hemorragias

La sangre en la orina o en las heces puede ser también un síntoma de hemofilia. La mayoría de los episodios de hematuria son espontáneos y asintomáticos. Cuando hay dolor suele ser por coágulos en la pelvis renal o en el uréter, lo que determina la cesación de la hematuria. Empieza en la edad escolar y se supone que sea causada por complejos inmunes en pacientes multitransfundidos (Correa, 2003).

Hemartrosis, hematomas musculares profundos y hemorragias cerebrales constituyen 95% de las hemorragias del hemofílico, aunque pueden afectar a cualquier parte del cuerpo, potencialmente. Las hemorragias más frecuentes son, por mucho, las hemartrosis (en las articulaciones de carga: rodillas, tobillos y codos), y le siguen los hematomas musculares superficiales y profundos. El 70% de los casos tienen claramente el fenotipo de la enfermedad en sus ascendientes varones, de ahí la importancia de la anamnesis dirigida en este sentido. La hemorragia de la hemofilia suele ser tardía, es decir, no sigue inmediatamente a la lesión, sino que inicia unos minutos después del traumatismo; esto se explica porque el paciente tiene íntegra la hemostasia primaria.

Las hemofilias se caracterizan clínicamente por una tendencia hemorrágica proporcional al grado de deficiencia del factor hemostático, aunque suele haber excepciones. El nivel funcional del factor deficiente permite clasificar la enfermedad en: grave (< 1% de la actividad), moderada (entre 1-5%) y leve (entre 5-40%).

Este círculo vicioso promueve la hipertrofia sinovial y predispone a las hemartrosis repetitivas en la misma articulación (articulación «blanco»), que

finalmente lleva a la incapacidad locomotora del paciente conocida como artropatía hemofílica (García, *Et al.*, 2013).

Pseudotumor Hemofílico

El pseudotumor hemofílico es una rara y grave complicación de los hematomas musculares típicos de la hemofilia. Se manifiesta como una masa quística indolora, de crecimiento lento e irregular, que puede comprimir órganos vitales o abrirse al exterior.

Esta complicación infrecuente que aparece en 2% de los pacientes con formas severas. Habitualmente hay un antecedente traumático. Generalmente se localizan en tejidos blandos como el músculo.

El pseudotumor hemofílico es resultado de múltiples episodios de sangrado dentro de los huesos y los tejidos blandos (Figura 10). Es raro y se ve sólo en casos de hemofilia severa. Los síntomas y las complicaciones giran alrededor del dolor y/o la compresión alrededor de las estructuras.

Clínicamente el aumento de tamaño puede no acompañarse de dolor. En los quistes de rápido crecimiento existirá dolor acompañado de consistencia elástica y de agresividad expansiva. Los quistes intraóseos son al principio duros pero al romper la cortical en su crecimiento se convierten en elásticos. El aspecto radiológico de estos quistes y pseudotumores no es característico y puede ser confundido con otras patologías incluso tumorales (Cortez, 2007).

Las fracturas en terreno patológico se pueden asociar con lesiones intraóseas y pueden resultar en reabsorción y destrucción del hueso por la presión crónica de una hemorragia ósea. Las radiografías pueden demostrar lesiones expansivas o

lesiones extraóseas. La hemorragia puede ocurrir en el espacio articular. Estas hemorragias intraarticulares pueden a través del tiempo ser expansivas. Se presenta el caso de un pseudotumor hemofílico en el hueso de la mano (Correa, 2003).



Figura 10. Destrucción de tejidos blandos (Cortez, 2007).

DIAGNÓSTICO CLÍNICO

El diagnóstico de la se sospechara en hijos de mujeres portadoras conocidas (historia familiar de hemofilia). El estudio a los recién nacidos debe efectuarse tempranamente, en situaciones de emergencia, se aconseja tomar la muestra de sangre del cordón umbilical, de lo contrario lo más prudente es tomar muestra de una vena periférica después de seis meses de edad, para mayor exactitud del resultado, una vez se haya superado la inmadurez hepática del recién nacido.

Pero de no existir historia familiar de hemofilia, el diagnóstico del afectado se realizara para los casos graves aproximadamente al año de vida, cuando existe mayor movilidad y se evidencia por hemorragias en sitios de presión y apoyo. Para los casos moderados y leves, el diagnóstico se retrasa incluso, a veces, hasta la vida adulta al presentarse hemorragia posterior a una agresión externa (trauma, cirugía, extracción dental, etc.) (Ruiz, 2009).

El diagnóstico clínico se hace con base en los hallazgos clínicos y en los resultados de los exámenes de laboratorio. Además de una historia médica completa y un examen físico, el medico puede realizar numerosos exámenes de sangre incluyendo niveles del factor de coagulación, un recuento sanguíneo completo, una evaluación de los tiempos de hemorragia y, o exámenes de Ácido Desoxirribonucleico (ADN). El médico también puede pedir detalles de los antecedentes familiares.

El diagnóstico biológico se basa en la dosificación de la actividad procoagulante correspondiente, bien sea del factor VIII o del factor IX, que se halla disminuida. Los exámenes que se deben hacer a todo paciente que se sospeche hemofilia son: tiempo de tromboplastina parcial (TPT) que se halla alargado dependiendo de la intensidad de déficit, tiempo de protrombina (TP) que resulta normal y

dosificación de factores, la cual se hace por técnicas de coagulación que miden la actividad de los factores (Henry, *Et al.*, 1988).

La combinación del uso del TP y TPTa (tiempo de tromboplastina parcial activado) en distintas preparaciones de muestras del paciente, como plasma absorbido y suero, sirven para hacer la clasificación de probable deficiencia de los distintos factores de la coagulación en pacientes con historia y signos y síntomas de alteración de componentes de coagulación y fibrinólisis (Correa, 2003).

Tabla 1. Pruebas de coagulación para clasificación de deficiencia de sus factores (Correa, 2003).

TPTa	TP	Plasma adsorbido		Suero		Probable deficiencia
		TPTa	TP	TPTa	TP	
A ^a	N ^b	N	I ^c		I	XI o XII
A	N	A	I	N	I	IX
A	N	N	I	A	I	VIII
N	A	I	A	I	N	VII
A	A	A	A	N	N	X
A	A	N	N	A	A	V
A	A	A	A	A	A	II
N	N	I	I	I	I	Ninguna

^aAlargado

^bNormal

^cInnecesario

Una manera simple de lograr un diagnostico con estas pruebas en el caso de sospecha de hemofilia es el siguiente:

Plasma problema +plasma de paciente con hemofilia A:

Si hay corrección del TPT = hemofilia B

Plasma problema +plasma de paciente con hemofilia B:

Si hay corrección del TPT = hemofilia A

PRUEBAS DE LABORATORIO

Es indispensable realizar la búsqueda de inhibidores contra el factor afectado, que se lleva a cabo por el método de las unidades Bethesda por Kasper.

La investigación de inhibidores en el laboratorio generalmente se sospecha con la prolongación del TTPa y ciertas condiciones clínicas:

1. Pacientes con diagnóstico de hemofilia quienes no responden al tratamiento sustitutivo con una dosis adecuada.
2. Pacientes sin historia clínica previa de hemorragia y que presenta de manera súbita hemorragias graves.
3. Pacientes con hemofilia B que presentan anafilaxia al concentrado de factor transfundido.

El diagnóstico en los pacientes con sospecha de inhibidores debe de realizarse de manera rápida y precisa. En pacientes sin historia de hemorragia siempre se debe de destacar la presencia de anticoagulante lúpico (DiMicheli, 1997).

La prueba confirmatoria para la detención del inhibidor se realiza en el laboratorio. Entre los métodos para la detención del inhibidor se encuentran; la determinación por unidades Oxford, la prueba clásica de Bethesda, la modificación a la prueba de unidades Bethesda; determinación de Nijmegen y la técnica de Elisa. La detención se realiza en unidades Bethesda (UB). Una UB se define como la cantidad del anticuerpo que neutraliza el 50% de la actividad del factor VIII o IX encontrado en el plasma normal (sin embargo, puede realizarse para determinar el resto de los factores que mide el TTPa; XII, XI, IX y VIII). La presencia de el inhibidor debe de ser cuantificada, la Sociedad Internacional de Hemostasia y Trombosis (ISHT), define dos tipos de inhibidor de acuerdo a la

respuesta inmune (posestímulo de factor): inhibidor de alta respuesta >5 UB y baja respuesta <5UB.

La prueba clásica de UB, es el método más empleado para la detención de estos inhibidores, pero carece de especificidad especialmente en los pacientes con niveles bajos de inhibidores. Por tal motivo, la ISHT recomienda actualmente la prueba modificada a la clásica de Bethesda: la prueba modificada de Nijmegen, la diferencia entre ambos métodos son dos modificaciones en la prueba clásica (Figura 11 y 12) (Ruiz, 2009).

Diversos trastornos hemorrágicos pueden presentar síntomas clínicos muy similares. A fin de garantizar que un paciente reciba el tratamiento adecuado, es indispensable un diagnóstico correcto (FMH, 2005).

Los exámenes hematológicos básicos como la biometría hemática, muestran hallazgos característicos. La presencia o ausencia de anemia depende de la magnitud y frecuencia de las hemorragias y es más común en niños.

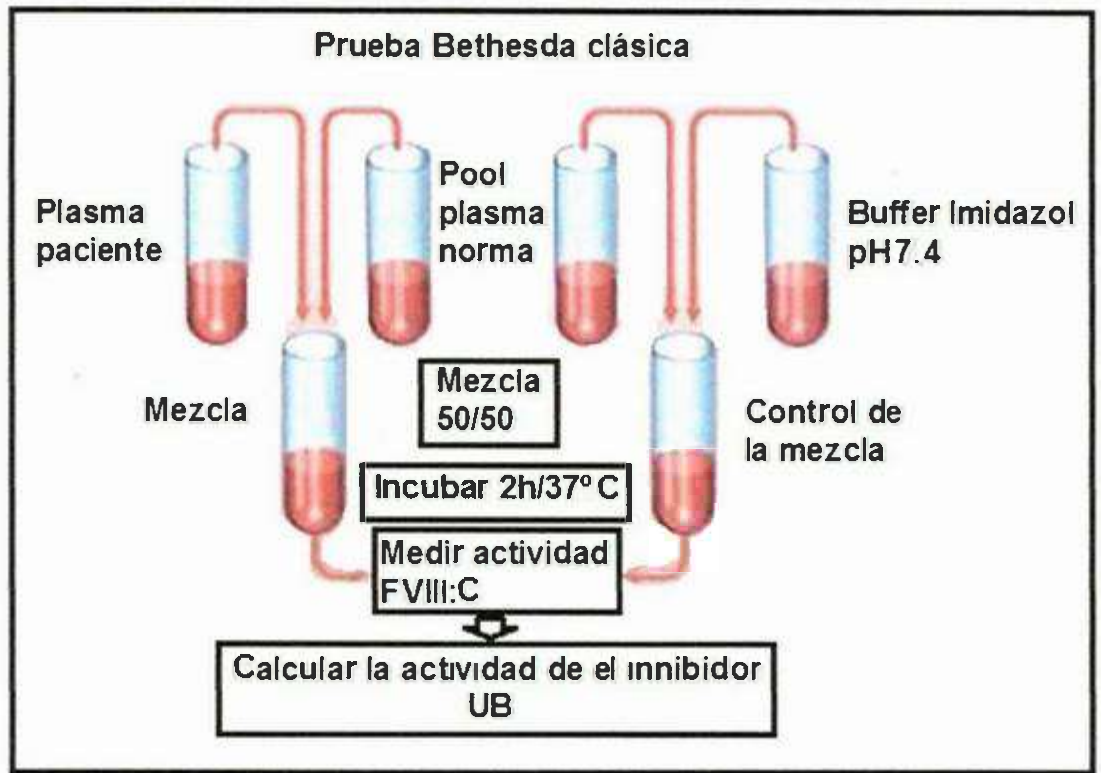


Figura 11. Método original de la Dra. Kasper para la detección de inhibidores (Ruiz, 2009).

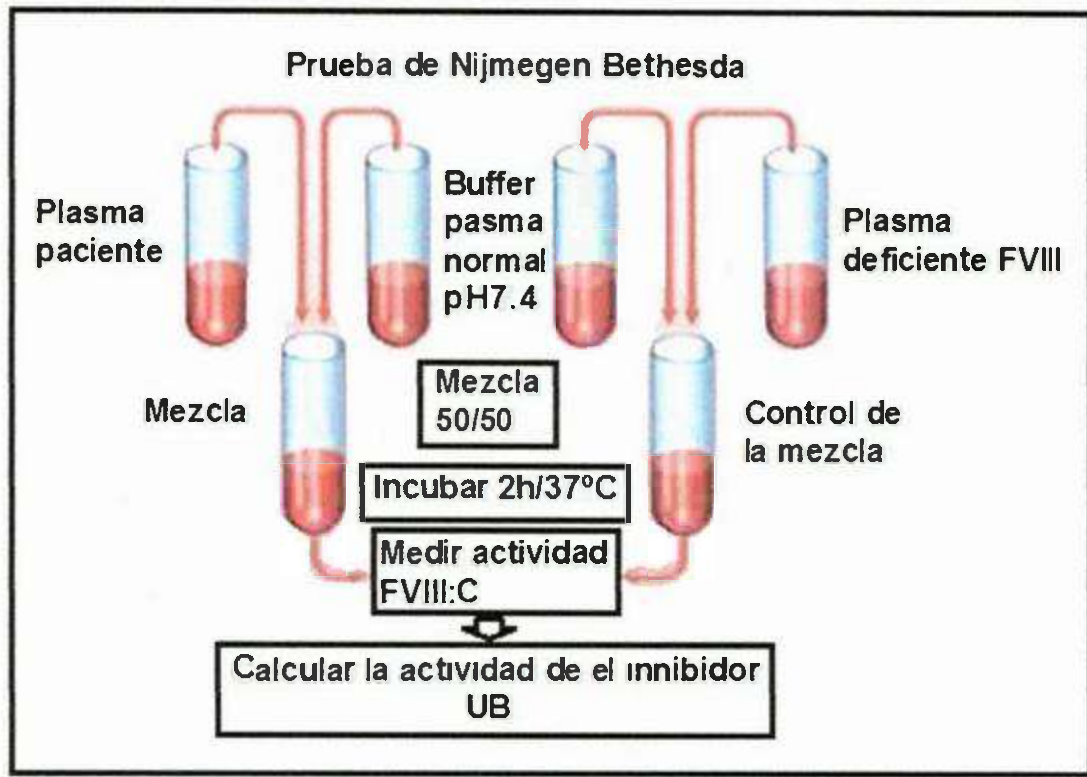


Figura 12. Prueba modificada de Nijmegen (Ruiz, 2009).

Pruebas de escrutinio

La hemofilia A, B y C van a diferenciarse una de la otra solo con la cuantificación de los factores involucrados, sin embargo las pruebas como la biometría hemática, tiempo de protrombina y tiempo de tromboplastina parcial activada puede orientar el diagnóstico de manera inicial.

Es conveniente iniciar con estudios de escrutinio general: biometría hemática, frotis de sangre periférica, coagulograma, tiempo de protrombina (TP), tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa), tiempo de trombina (TT) y tiempo de hemorragia (TH). La prueba que mejor refleja los factores VIII y IX es el TTPa. En un paciente típico, el TTPa está prolongado y corrige al adicionar plasma normal a la prueba; el resto de las pruebas permanecen normales.

Tiempo de protrombina, mide el tiempo que tarda el plasma para coagularse y la deficiencia de los factores V, VII, X, fibrinógeno y protrombina. Con valores normales 11-13,5 segundos.

Tiempo de trombina, detecta enfermedades que cursan con alteraciones de los valores normales de fibrinógeno que consiste en el estudio del tiempo de coagulación del plasma que se le añade a la trombina. Los valores normales es de 15-20 segundos. Los valores se prolongan cuando hay defectos en el fibrinógeno. Prolongado en presencia de heparina.

El tiempo de hemorragias, mide el tiempo que tarda los pequeños vasos en cerrarse para detener el sangrado y la efectividad de las plaquetas. Valores normales 1-9 minutos, la enfermedad de Von Willebrand estaría prolongado cuando las plaquetas están disminuidas tanto en función como en número.

Tiempo de tromboplastina, estudia los factores que interviene en la vía intrínseca, permite detectar cualquier carencia de los factores tromboticos. Se utiliza para el control de la dosis de heparina con valores normales de 35-43 segundos con un tiempo muy prolongado debido al déficit de factores que participan en la vía intrínseca pero también se alarga en presencia de heparina no fraccionada.

Tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPa), valora la vía intrínseca. Detecta deficiencia de todos los factores excepto el VII y XIII así como la presencia de anticoagulantes circulantes. Niveles factoriales inferiores a 20-40% alargan el TTPa. Un TTPa > 1,5 se correlaciona con déficit de factores y el riesgo de hemorragia. Es la prueba más utilizada para el control del tratamiento con heparina.

El análisis de los factores de coagulación comprueba la ausencia, déficit o disfuncionalidad de los factores de coagulación VIII, IX y XI mide el porcentaje de actividad del factor con valores normales de 70-150% del valor control. Menos de 50% se detecta la enfermedad la disfunción del factor VIII detecta la hemofilia tipo A, en factor IX tipo B y el factor XI tipo C.

Diagnóstico molecular es un análisis genético para detectar las mutaciones en los cromosomas que trasmite la hemofilia (García, *Et al.*, 2013).

Tabla 2. Pruebas de hemostasia. Hemofilia A y B. (García, *Et al.*, 2013)

Pruebas Hemostasia	Hemofilia A	Hemofilia B
Cuenta de plaquetas	Normal	Normal
Tiempo de Hemorragia	Normal	Normal
TP	Normal	Normal
TTPa	Prolongado	Prolongado
TT	Normal	Normal
Fibrinógeno	Normal	Normal
FVIII:C	Bajo	Normal
FIX:C	Normal	Bajo

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La hemofilia siendo una enfermedad genética, que depende tanto del padre como de la madre y que puede heredarse a los hijos, puede ser bastante devastadora en las personas que la padecen, debido a los problemas que se presentan por falta de coagulación sanguínea en caso de heridas golpes o algunas cirugías.

El síntoma más común de la hemofilia es la hemorragia incontrolable y excesiva por causa del factor de coagulación que falta o está en bajos niveles en la sangre lo que puede llegar a causar la muerte. Otras consecuencias son las artropatías que pueden ser irreversibles; Además del impacto psicosocial importante que provoca esta enfermedad en la vida de los pacientes.

En este sentido una complicación en un paciente con hemofilia, si no se actúa de manera adecuada y a tiempo puede desencadenar en una situación de alto riesgo para el paciente. Es fundamental la educación y formación en hemofilia para padres, pacientes, familiares, profesores, médicos, enfermeras y fisioterapeutas.

Por lo que la recomendación es apoyar y estimular a todas las personas para su plena integración en la sociedad, aspirando a mejores niveles educativos que eleven su calidad de vida, así como realizar estudios que incluyan el seguimiento de las personas hemofílicas y portadoras de hemofilia.

BIBLIOGRAFÍAS

Arraz P.; Costa M.; Bayes R., Et at. (1996) *El apoyo emocional en Hemofilia*. Publicaciones Victoria Eugenia, Murcia.

Boulevard W.R. (1997) *Temas claves para el tratamiento de la Hemofilia: Productos y Atención* Publicada por la Federación Mundial de la Hemofilia, Hechos y Cifras N°1

Bruce E.; Harland A.; Garciela L, Et at. (1999). *Estimación del riesgo a largo plazo exposición al VIH por el crioprecipitados*. Publicado por la Federación Mundial de la Hemofilia. Atlanta Georgia, U.S.A.

Campbell Neil. (2007) *Biología Séptima Edición*. Editorial Médica Panamericana.

Correa J. (2003) *Fundamentos de Pediatría Tomo IV Segunda Edición*. CIB. Colombia.

Cortez Gómez J. (2007) Pseudomotor Hemofílico. Reporte de caso clínico. *Revista Mexicana de Ortopedia Pediátrica Volumen 9, Numero 1 pp 25-28*

Díaz S.V. (2001) *Defectos de la coagulación (Hemofilia A y B)* Hematología

Di Michele Donna M. (1997) *Inhibidores de la Hemofilia información básica* Publicación en la Federación Mundial de la Hemofilia N°007: 1-5

Federacion Mundial de Hemofilia (FMH) (2005) *Diactrises para el tratamiento de Hemofilia*.

García C.J. y Majluf-C.A. (2013) *Hemofilia* Gaceta Médica de México 149: 308-21

Giangrande P. (2012) *HEMOFILIA ADQUIRIDA*. N°38 Oxford Haemophilia & Thrombosis center Oxford, Reina Unido.

Gimenez Salvador (2008) *La hemofilia* Artículo de Medicina 21

Guisar V. J. (2001) *Genética Clínica* 3 Edición.

Henry K., y Henry S. (1988) *Diagnóstico y Tratamiento Pediátricos* 7ma. Edición Editorial. El manual moderno, S.A. de C.V.

Informe conceptual. Sociedad Iberoamericana en Información científica (SIIC) (2001). Redacción conceptual en castellano: SNC. *MUERTE POR HEMOFILIA*. Publicada en www.saludpublica.com Ciudad de la investigación: Atlanta, EE. UU. Fuente informativa: Blood 96 Cantidad de páginas: Artículo editado en las páginas 437 y 442 de la fuente citada.

Izenberg N. (2004) *ENFERMEDADES Y TRASTORNOS DE LA SALUD* Volumen 2. 532-537

Jiménez Escrig A. (2003) "MANUAL DE NEUROGENETICA" Pag. 237-240

Kasper K.C. (2008) *TRASTORNOS HEREDITARIOS DE LOS FACTORES DE LA COAGULACION PLASMATICA Y SU MANEJO*. Quinta edición. Publicado por FMH

Lavaut S.K. (2013) *Importance of the diagnosis of carriers in families with of hemophilia*. Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hematología.

Liras M.A. (2014) *Historias de la enfermedad*. Federación Española de Hemofilia. fedhemo@hemofilia.com www.hemofilia.com

Oliva R.; Ballesta F.; Oriola J., Claria J. (2008) *Genética Médica* 169

Páramano J., Panizo E., Pegenaute C., Lecumberri R. (2009) *Coagulación 2009: una visión moderna de la hemostasia*. Revisión Médica. Universidad Navarra Vol. 53, N° 1 19-23

Ruiz Arguelles G. J. (2009) *Fundamentos de la Hematología*. 4ª Edición.

Saens S.J. (2001) *Hematología Clínica* 4ta. Edición Harcourt, S.A. Madrid España

Scully Crispian, Diz Dios P., Giangrande P. (2008) *CUIDADOS ORALES PARA PERSONAS CON HEMOFILIA O UNA TENDENCIA HEMORRAGICA HEREDITARIA*. Segunda Edición.

Schulman S. (2004) *Protocolos para tratamiento de la hemofilia y el de la enfermedad de Von Willebrand*. Publicada por la federación mundial de Hemofilia. Georgia, Estados Unidos. Tratamiento de la Hemofilia N° 14

Takedani (2010) *Continuos infusión during total joint arthroplasty in Japanese haemophilia A patients: comparison study among two recombinants and one plasma-derived factor VIII* ORIGINAL ARTICLE Clinica haemophilia N°16. 740-746.

Teitel JM, Bornard D., Israels et al. (2006) *Beneficios económicos de la terapia en el hogar*. Hoja informativa N°4 de la Federación Mundial de la Hemofilia. Home management of Hemophilia 2004wfa www.wfh.org

Takedani (2010) *Continuos infusión during total joint arthroplasty in Japanese haemophilia A patients: comparison study among two recombinants and one plasma-derived factor VIII* ORIGINAL ARTICLE Clinica haemophilia N°16. 740-746.

GLOSARIO

Antígeno: Es cualquier sustancia que provoca que el sistema inmunitario produzca anticuerpos contra sí mismo. Un antígeno puede ser una sustancia extraña proveniente del ambiente, como químicos, bacterias, virus o polen. También se puede formar dentro del cuerpo, como con las toxinas bacterianas o las células tisulares.

Portador(a): Que lleva en su cuerpo las bacterias o los virus que causan una enfermedad y los puede transmitir o contagiar.

Factor Von Willebrand: es una glicoproteína de la sangre que interviene en el momento inicial de la hemostasia. Su función, junto con la fibronectina es permitir que las plaquetas se unan de manera estable a la superficie del vaso roto.

Mutación: es una alteración o cambio en la información genética (genotipo) de un ser vivo (muchas veces por contacto con mutágenos) y que, por lo tanto, va a producir un cambio de características de éste, que se presenta súbita y espontáneamente, y que se puede heredar o transmitir a la descendencia. Este cambio va a estar presente en una pequeña proporción de la población (variante) o del organismo (mutación). La unidad genética capaz de mutar es el gen que es la unidad de información hereditaria que forma parte del ADN.

Novo: Literalmente de nueva procedencia, para referirse algo no heredado.

Herencias: es el proceso por el cual las características de los individuos se transmiten a su descendencia, ya sean características fisiológicas, morfológicas o bioquímicas de los seres vivos bajo diferentes condiciones ambientales. Es el proceso por el cual los genotipos crecen y sólo representa una parte de la herencia, es decir, el porcentaje de la variabilidad fenotípica debido a efectos genéticos aditivos. Pero definir las fuentes y el origen de las semejanzas entre miembros de una misma familia incluye también otro tipo de variables.

Lyonización: es un fenómeno por el cual en células de un organismo con múltiples cromosomas X aparecen los llamados Corpúsculos de Barr por la inactivación de todos menos uno de ellos.

Síndrome de Turner: Es una afección genética rara en la cual una mujer no tiene el par normal de dos cromosomas X.

Inhibidores: Compuesto que tiene por efecto frenar o impedir algunas reacciones químicas, como la oxidación, la corrosión, la polimerización.

Hematomas: es la acumulación de sangre causada por una hemorragia interna (rotura de vasos capilares, sin que la sangre llegue a la superficie corporal) que aparece generalmente como respuesta corporal resultante de un golpe, una contusión o una magulladura.

Hemartrosis: se refiere a la condición que se caracteriza por el sangrado en los espacios articulares, es comúnmente causada por el dolor y la inflamación de una articulación simple o monoarticular debido a una lesión.

Hematurias: es la presencia de sangre en la orina, una afectación frecuente en medicina humana y veterinaria. El color de la orina puede variar desde el color rojo sangre (o rojo vivo) hasta el color café (popularmente descrito como de bebida cola), dependiendo de si esta sangre es fresca o ha sido transformada en hemoglobina ácida por efecto del pH urinario.

Artropatía: es una enfermedad del sistema nervioso central con degeneración de los nervios que llevan las señales correspondientes a los músculos.

Recidivante: Reparición de una enfermedad después de padecerla, o adjetivo de una enfermedad que el paciente recae.

Sinovitis: es una inflamación o irritación de la membrana sinovial que reviste las articulaciones. Esta membrana genera un líquido de aspecto viscoso y claro llamado líquido sinovial, cuya función es reducir la fricción entre los cartílagos y

otros tejidos de las articulaciones para, de alguna manera, lubricarla durante la función de movimiento y evitar así su desgaste.

Hemoderivados: Componentes de la sangre. Son las fracciones separadas de una unidad de sangre, como el plasma, albúmina, gammaglobulina, concentrado de eritrocitos, plaquetas y factor VIII.

Crioprecipitados: Es la parte insoluble en frío del plasma que resulta de la descongelación entre 1 y 6° C del patrón circulatorio fetal persistente.

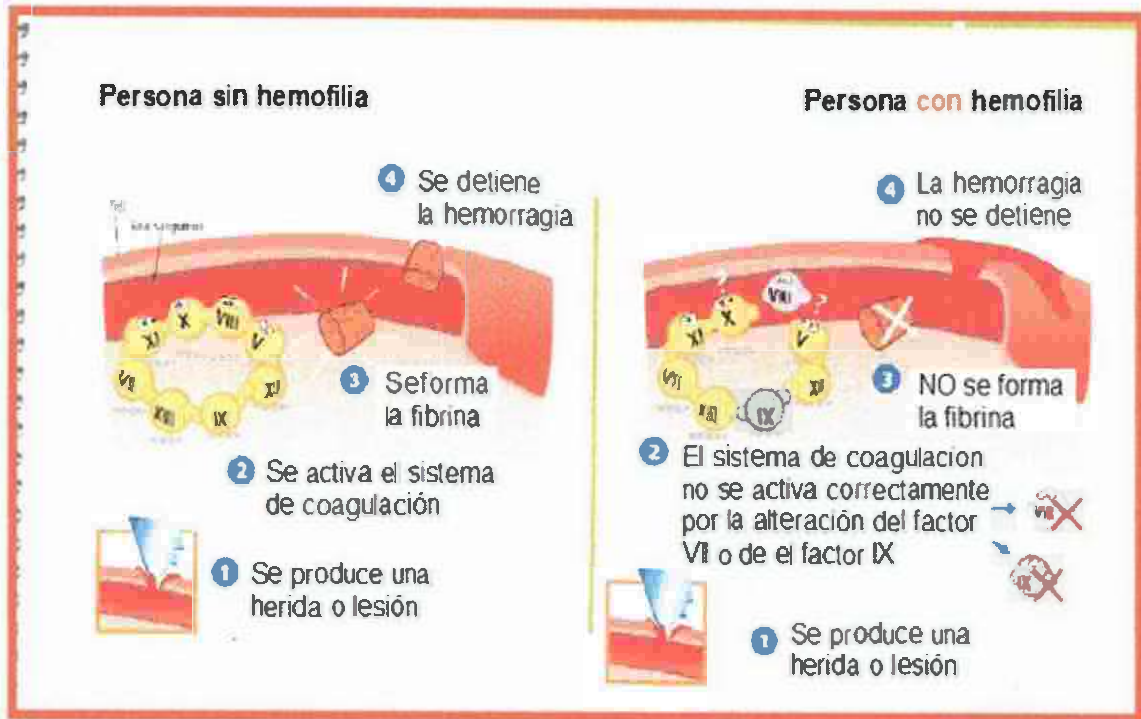
Profilaxis: es aquello que se lleva a cabo o se utiliza para prevenir la aparición de una enfermedad o el surgimiento de una infección.

Coagulograma: comprende un conjunto de pruebas que exploran la participación de todos los componentes de hemostasia: endotelio vascular, actividad plaquetaria, factores plasmáticos y fibrinolíticos.

R.T/70079

ANEXOS

Diferencias en la hemostasia en personas con hemofilia y sin hemofilia



Incidencia de hemofilia en América Latina

País	Población (hab.)	Personas con hemofilia
Brasil	201,103,330	10,065
México	112,468,855	4,527
Argentina	41,343,201	2,264
Venezuela	27,223,228	2,040
Colombia	44,205,293	1,915
Chile	16,746,491	1,252
Perú	29,907,003	743
Paraguay	6,375,830	448
Cuba	11,477,459	403
Honduras	7,989,415	283
Panamá	3,410,676	262
Ecuador	14,790,608	251
República Dominicana	9,823,821	249
Uruguay	3,510,386	236
Nicaragua	5,995,928	217
Costa Rica	4,516,220	194
Guatemala	13,550,440	114
Belice	314,522	14
Total		25,447



TriniCLOT™ PT Excel

REF	T1105	5 x 20 ml
REF	T1106	10 x 6 ml
		ESPAÑOL

USO PREVISTO

TriniCLOT PT EXCEL es un reactivo de trombotasina tisular (cerebro de conejo), que se utiliza en análisis de tiempo de protrombina modificado de una fase^{1,2}

RESUMEN Y PRINCIPIO

Un análisis de tiempo de protrombina (PT) es sensible a las deficiencias del sistema extrínseco de coagulación (Factores II, V, VII y X).^{3,4} El PT se utiliza como exploración prequirúrgica para detectar posibles problemas hemorrágicos. Un PT prolongado generalmente es indicativo de un nivel bajo en uno o más de los factores del sistema de coagulación extrínseco o común, cuya causa pueden ser trastornos hereditarios de la coagulación, una deficiencia de Vitamina K, problemas hepáticos o ingestión de fármacos. El PT es el análisis de laboratorio más corriente empleado para monitorizar la terapia anticoagulante oral,⁵ puesto que es sensible a los Factores VI y X.

No es sensible a las deficiencias del sistema intrínseco (Factores VIII, IX, XI y XII) o a las disfunciones plaquetarias. No puede utilizarse para la monitorización de la terapia de heparina. Está recomendada la determinación del Tiempo de Activación Parcial de Trombotasina (APTT) para monitorizar la terapia de heparina,⁶ se recomienda un análisis de tiempo de hemorragia para identificar las disfunciones plaquetarias.

REACTIVO

Para uso diagnóstico *in vitro*.

DESCRIPCIÓN DEL REACTIVO

TriniCLOT PT Excel Reagent, 5 x 20 ml, T1105A.
TriniCLOT PT Excel Reagent, 10 x 6 ml, T1106A.
Trombotasina tisular procedente de cerebro de conejo, iones de calcio y estabilizador.

TriniCLOT PT Excel Diluent, 5 x 20ml, T1105B.
TriniCLOT PT Excel Diluent, 10 x 6 ml, T1106B.
Estabilizadores y conservantes. Contiene azida sódica al 0,05% como conservante.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reconstituir un vial de reactivo de TriniCLOT PT EXCEL con un vial de diluyente. Los dos componentes deben ser del mismo lote del kit. Volver a tapar el vial e invertirlo suavemente varias veces para garantizar una rehidratación completa. Dejar reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente (18-25°). Invertir suavemente antes de su uso para garantizar homogeneidad y realizar al menos dos (2) niveles de control de calidad de inmediato.

Precaución: Este producto contiene azida sódica (NaN₃) como conservante. Si se desecha en el alcantarillado, lavar siempre con cantidades copiosas de agua. De esta forma se impide la formación de azidas metálicas que, en caso de aumentar su concentración en las tuberías metálicas, podrían causar explosiones.

MATERIALES ADICIONALES NECESARIOS

Micropipeta con punta desechable.
Anticoagulante: Usar tubos de recogida al vacío disponibles comercialmente con un contenido de citrato de sodio al 3,2%.

MATERIALES DISPONIBLES

- * Reactivos de control
- * Instrumentación para coagulación

INSTRUMENTOS

Existen adaptadores de método/aplicaciones para analizadores específicos bajo petición. Para solicitar uno, póngase en contacto con su comercial local.

ALMACENAJE Y ESTABILIDAD

Almacenar el reactivo de trombotasina y el diluyente a 2-8°C mientras no se utilice. La fecha de caducidad impresa en el vial indica los límites de estabilidad sin reconstituir. El reactivo permanece estable durante cuatro días si se mantiene en el vial original (tapado herméticamente) y se almacena a 2-8°C. Agregar cuatro días a la fecha de reconstitución y registrar dicha información en la etiqueta del vial.

OBTENCIÓN Y ALMACENAJE DE MUESTRAS

Se deben obtener nueve volúmenes de sangre en un volumen de citrato de sodio al 3,2% (0,109 M). Inmediatamente después de obtener las muestras de sangre, las muestras se centrifugan a 1500 x g durante 15 minutos. No se recomienda su almacenaje a 2-8°C, pues podría causar una activación en frío del Factor VII. Consulte la versión más reciente del documento H21 de CLSI para obtener instrucciones adicionales sobre la obtención y el almacenaje de muestras.⁷

PROCEDIMIENTO

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- No pipetear con la boca ninguno de los materiales. No fumar, comer ni beber en zonas donde se manipulen muestras o reactivos del kit.
- Utilizar guantes desechables y manipular todas las muestras de sangre del ensayo con la máxima precaución, tratándolas como si fueran susceptibles de transmitir agentes

infecciosos. Consultar inmediatamente a un facultativo en caso de ingestión o contacto de muestras hematológicas con heridas abiertas, lesiones u otras grietas de la piel.

- Limpiar inmediatamente cualquier salpicadura de muestras con una solución 1:10 de hipoclorito sódico al 5%. Desechar los materiales de limpieza por un método aceptable.
- Tratamiento de los productos hematológicos antes de su desecho
 - Autoclave durante 60 minutos a 121°C.
 - Incinerar los materiales desechables.
 - Mezclar los residuos líquidos con una solución de hipoclorito sódico al 5% de forma que la concentración final de hipoclorito sódico sea de aproximadamente 1%. Dejar reposar durante 30 minutos antes de su desecho.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

- Calentar previamente un volumen suficiente de TriniCLOT PT Excel reconstituido a 37°C (0,2 ml por análisis). Tomar las precauciones necesarias para impedir la evaporación y no mantener a 37°C sin tapón durante más de 60 minutos antes del uso. En los instrumentos de la serie OPTON Plus solamente: no conservar el reactivo en el instrumento a 37°C por más de 8 horas. Desechar los reactivos que han permanecido en el instrumento a 37°C durante 8 horas o más.
- Etiquetar un tubo de ensayo para cada muestra (paciente y control) del análisis.
- Agregar 0,1 ml de muestra o control en el tubo apropiado.
- Incubar cada muestra y control a 37°C de 3 a 10 minutos.
- Por fuerza, agregar 0,2 ml de TriniCLOT PT Excel precalentado y, al mismo tiempo, iniciar el cronometraje de detección de coagulación.
- Anotar el tiempo, en segundos, requerido para detectar la coagulación.

NOTAS Y PRECAUCIONES DE PROCEDIMIENTO

- Es importante el uso de instrumental de vidrio (o de plástico) limpio. La superficie del contenedor y su área pueden afectar a la activación de las muestras. Se recomienda una técnica constante para todos los procedimientos de coagulación. También se recomienda duplicar las determinaciones.
- Se recomienda la siguiente secuencia para realizar un análisis de tiempo de protrombina de una fase con técnica manual. Las determinaciones automatizadas deben realizarse conforme a las instrucciones específicas que acompañen al instrumento utilizado.
- Se recomienda el uso de plasmas de control (TriniCHECK Level 1, 2 y 3 o TriniCHECK Control 1, 2 y 3 (assayed)) para la monitorización de los ensayos de coagulación.

CONTROL DE CALIDAD

- Se recomienda el uso de plasmas de control (TriniCHECK Level 1, 2 y 3 o TriniCHECK Control 1, 2 y 3 (assayed)) para controlar los análisis de coagulación conforme a los procedimientos de control de calidad de laboratorio establecidos. El CLSI recomienda analizar los controles al inicio de la prueba al menos una vez en cada serie o con cada grupo de análisis. En laboratorios de gran volumen, los controles deben ensayarse al menos cada 40 muestras.⁸
- Si los valores de los controles quedan fuera del intervalo establecido, no deben registrarse los resultados de los pacientes. Debe determinarse qué parte del sistema instrumental/reactivo/control no funciona correctamente y corregirse. Una vez instauradas y documentadas las medidas correctoras conforme a las buenas prácticas de laboratorio, deben volverse a analizar los controles. Si los controles están dentro del intervalo establecido, pueden volverse a analizar y registrarse las muestras de pacientes.

RESULTADOS

El tiempo de protrombina obtenido puede convertirse en índice de tiempo de protrombina o Índice Normalizado Internacional (INR International Normalized Ratio).

Índice de tiempo de protrombina

El índice de tiempo de protrombina (PT) se calcula dividiendo el PT del paciente por el PT medio del rango normal del laboratorio.

$$\text{Índice de PT} = \frac{\text{PT del paciente}}{\bar{X} \text{ PT normal}}$$

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Aunque pueden utilizarse con TriniCLOT PT Excel la mayoría de los métodos manuales o automatizados de detección de la coagulación, cada método puede detectar resultados ligeramente diferentes. Sea cauto cuando compare resultados obtenidos con métodos diferentes.

RESULTADOS ESPERADOS

Los resultados obtenidos dependen de numerosos factores, como la temperatura, la calidad del agua, el pH, la fuerza iónica, el método de ensayo utilizado, la recogida y conservación de las muestras y la población de pacientes en consideración. Los rangos normales de muestras deben ser establecidos por cada laboratorio.

Se realizaron análisis de tiempo de protrombina en 119 adultos normales, mediante el uso de instrumentos foto-ópticos y mecánicos, con el fin de establecer un rango normal. Basándonos en estos resultados se determinó un rango normal comprendido entre 10-14 segundos.

CÁLCULO DE RESULTADOS

El resultado de la prueba (en segundos) se convierte a porcentaje de actividad normal por medio de una curva de referencia. La curva de referencia puede determinarse mediante (1) la preparación y el análisis de diluciones de una mezcla de plasmas citratados normales o de un material de referencia o (2) el uso de un conjunto asignado de plasmas de calibración quick % tal como el Plasma de calibración TriniCAL INR & Quick (Ref T5101) para tiempo de protrombina.

- (1) La curva de referencia se prepara mediante el análisis de diluciones de una mezcla de plasmas citratados normales o material de referencia. Se realizan las diluciones en tampón veronal de Owen según el siguiente esquema.

Porcentaje	100%	50%	25%	12,5%
Dilución	sin diluir	1:2	1:4	1:8
Plasma	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
Tampón veronal	0,0 ml	0,5 ml	1,5 ml	3,5 ml

- (2) TriniCAL INR & Quick (T5101): consulte la ficha técnica de TriniCAL INR & Quick al utilizar este producto.

Los clientes que poseen instrumentos de la serie OPTION/OPTION Plus también pueden consultar el gráfico de conversión adjunto de tiempo de protombina específico del lote para determinar el porcentaje de actividad (Quick %) del paciente.

Índice Normalizado Internacional (INR)

El INR se calcula por medio del Índice de Sensibilidad Internacional (ISI):

$$\text{INR} = \text{Índice PT}^{\text{ISI}}$$

Para cada lote de TriniCLOT PT Excel se determina un valor de ISI mediante su calibración relativa a un Preparado de referencia Internacional, y se suministra en el cuadro de valores INR adjunto. Cuando se utilizan el índice de PT calculado y el valor de ISI asignado al lote particular de TriniCLOT PT Excel, puede obtenerse el INR a partir de la tabla adjunta.

CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO

En estudios representativos de realización de réplicas con TriniCLOT PT Excel, el tiempo medio de coagulación para plasma mezclado normal era de 11,4 segundos, con una desviación estándar (SD) de 0,1 y un coeficiente de variación (CV) de 1,1%. En estudios similares que utilizaban plasma mezclado anómalo, el tiempo medio de coagulación era de 17,6 segundos, con una SD de 0,3 y un CV de 1,6%.

El resultado presentado sólo es orientativo. Cada laboratorio debe establecer sus propios valores de control basándose en el método de detección de resultados empleado y las condiciones de ensayo en su laboratorio.

Para cualquier consulta técnica en EE.UU., póngase en contacto con el Servicio Técnico de Tcoag en el número de teléfono 888 291 0415. Fuera de EE.UU., póngase en contacto con su representante de Tcoag.

REFERENCIAS

1. Quick AJ, Stanley Brown M and Bancroft FW. *Am J Med. Sci* 190, 501 (1935).
2. Shapiro S and Weiner M: *Coagulation, Thrombosis and Dicumarol*. Brooklyn Medical Press, NY (1949).
3. Beckala HR, Leaville DE and Didisheim P. *Am J Clin Pathol* 70, 71-75 (1978).
4. Kumar R, Ansell JE, Canoso R and Deykin D. *Am J Clin Pathol* 70, 642 (1978).
5. Miele JB and LaFond DS: *Am J Clin Pathol*, 52, 154 (1969).
6. Brandt JT, Triplett DA: *Laboratory monitoring of heparin. Effect of reagents and instruments on the activated partial thromboplastin time*. *Am J Clin Pathol* 1981; 76:530.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays: Approved Guideline - Fifth Edition* CLSI document H21-A5 Vol. 28, No. 5, 2008.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute document (CLSI). *One-Stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test*, Approved Guideline - Second Edition. CLSI document H47-A2 Vol. 28 No. 20, 2008.

INFORMACIÓN SOBRE EL PEDIDO

KIT		TriniCLOT PT Excel
Kit Content	Item	Quantity
T1105	TriniCLOT PT Excel	5 x 20 ml
T1106	TriniCLOT PT Excel	10 x 6 ml
ADDITIONAL PRODUCTS AVAILABLE		
Catalogue No.	Item	Quantity
T4111	TriniCHECK Level 1 (un-assayed)	10 x 1 ml
T4112	TriniCHECK Level 2 (un-assayed)	10 x 1 ml
T4113	TriniCHECK Level 3 (un-assayed)	10 x 1 ml
T4101	TriniCHECK Control 1 (assayed)	10 x 1 ml
T4102	TriniCHECK Control 2 (assayed)	10 x 1 ml
T4103	TriniCHECK Control 3 (assayed)	10 x 1 ml
T5101	TriniCAL INR & Quick	4 x 1 ml



Tcoag Ireland Limited,
DA Business Park,
Southern Cross Road,
Bray, Co. Wicklow,
Ireland.
Tel. + 353 1 2743200
Fax + 353 1 2746678
www.tcoag.com
info@tcoag.com



T1105-T1106-29 Rev B
03/2011

TriniCLOT™ Thrombin Time

REF	T1411	10 x 1 ml
REF	T1414	10 x 4 ml
ESPAÑOL		

USO PREVISTO

TriniCLOT Thrombin Time está indicado para la determinación de fibrinógeno funcional en plasma humano.

RESUMEN Y PRINCIPIO

La enzima trombina es la penúltima proteína de la secuencia de coagulación y actúa sobre el fibrinógeno soluble para convertirlo en fibrina insoluble. La trombina ha demostrado ser un reactivo útil para la evaluación en laboratorio de muchos trastornos del fibrinógeno, como hipofibrinogenemia y disfibrinogenemia.

Con niveles de fibrinógeno de unos 200 mg/dl e inferiores, el tiempo de coagulación de la trombina es más largo de lo normal. Las moléculas de fibrinógeno no funcionales (disfibrinogenemia) también producen un tiempo de trombina prolongado. La heparina, en presencia de cantidades adecuadas de AT-III, también alarga el tiempo de trombina.

REACTIVO

Para uso diagnóstico *in vitro*.

DESCRIPCIÓN DEL REACTIVO

TriniCLOT Thrombin Time, 10 x 1 ml, T1411A o 10 x 4 ml, T1414A

Para uso en determinaciones de tiempo de trombina. Contiene trombina bovina liofilizada y estabilizadores (aproximadamente 10 unidades NIH/ml).

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reconstituir los viales con agua de alta pureza según las siguientes instrucciones:

T1411: Reconstituir el vial con 1 ml

T1414: Reconstituir el vial con 4 ml

Antes del uso, déjelo reposar a temperatura ambiente (18-25°C) durante 10-15 minutos agitándolo de vez en cuando. Compruebe que se hayan disuelto todas las partículas.

MATERIALES ADICIONALES NECESARIOS

Agua purificada (desionizada o destilada) Pipetas de precisión
Analizador de coagulación

MATERIALES DISPONIBLES

- Analizador de coagulación
- Material de control

INSTRUMENTOS

Existen adaptadores de método/aplicaciones para analizadores específicos bajo pedido. Para solicitar uno, póngase en contacto con su comercial local.

El número de pruebas obtenidas con instrumentos concretos puede variar.

ALMACENAJE Y ESTABILIDAD

Los viales sin abrir se pueden conservar a 2-8°C hasta la fecha de caducidad impresa en las etiquetas.

Después de la reconstitución, guárdelos:

Temperatura	Tiempo
Ambiente (18-25°C)	8 horas
-20°C	30 días

OBTENCIÓN Y ALMACENAJE DE MUESTRAS

Se deben obtener nueve volúmenes de sangre en un volumen de citrato de sodio al 3,2% (0,109 M). Inmediatamente después de obtener las muestras de sangre, las muestras se centrifugan a 1500 x g durante 15 minutos. Consulte la versión más reciente del documento H21 de CLSI para obtener instrucciones adicionales sobre la obtención y el almacenamiento de muestras.

PROCEDIMIENTO

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Todos los residuos que contengan material biológico deben marcarse adecuadamente y almacenarse por separado de otros residuos. Deseche todo el material de residuo de acuerdo con la legislación internacional, nacional y local aplicable.

La prueba debe utilizarse en combinación con observaciones clínicas y con los resultados de otras pruebas de laboratorio.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Utilice 0,1 ml de reactivo de trombina a temperatura ambiente (18-25°C) para coagular 0,2 ml de muestra de plasma precalentada a 37°C, siguiendo las instrucciones del fabricante del instrumental.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de materiales de control tanto normales como anormales. Los materiales de control deben ser analizados con el mismo procedimiento utilizado para las muestras de

pacientes. Se recomienda emplear TriniCHECK Control 1 y TriniCHECK Fibrinogen Low Control para la supervisión de la prueba de tiempo de trombina. Estos materiales deben prepararse y manipularse siguiendo las instrucciones de sus respectivos envases.

RESULTADOS

RESULTADOS ESPERADOS

Los valores normales obtenidos de la determinación del tiempo de trombina varían en función del instrumental y las técnicas utilizadas.

El procedimiento debe dar como resultado tiempos de trombina prolongados con concentraciones de heparina superiores a 0,3 IU/ml y con concentraciones de fibrinógeno en plasma inferiores a 200 mg/dl.

Los resultados típicos con instrumental mecánico son los siguientes y se citan a título de ejemplo:

Concentración aproximada de fibrinógeno		Plasma normal mezclado
mg/dl	g/L	segundos
200	2,00	10-12
90	0,90	17-19
50	0,50	26-28

Los valores varían en función del instrumental que se utilice. Cada laboratorio debe determinar sus propios límites de aceptabilidad a efectos de control de calidad.

REFERENCIAS

- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays; Approved Guideline - Fifth Edition*. CLSI document H21-A5 Vol. 28, No. 5, 2008.

INFORMACIÓN SOBRE EL PEDIDO

INDIVIDUAL REAGENTS

Catalogue No.	Item	Quantity
T1411	TriniCLOT Thrombin Time	10 x 1 ml
T1414	TriniCLOT Thrombin Time	10 x 4 ml

REAGENT REQUIRED, BUT NOT PROVIDED

Catalogue No.	Item	Quantity
T4111	TriniCHECK Level 1 (Un-assayed)	10 x 1 ml
T4101	TriniCHECK Control 1 (assayed)	10 x 1 ml
T4105	TriniCHECK Fibrinogen Low Control	10 x 1 ml
T4104	TriniCHECK Abnormal Control	10 x 1 ml



Tcoag Ireland Limited,
IDA Business Park,
Southern Cross Road,
Bray, Co. Wicklow,
Ireland,
Tel +353 1 2743200
Fax +353 1 2746678
www.tcoag.com
info@tcoag.com



T1411-T1414-29 Rev B
03/2011



TriniCLOT™ Automated aPTT

REF	T1205	10 x 6 ml
REF	T1206	10 x 3 ml
		ESPAÑOL

USO PREVISTO

TriniCLOT Automated aPTT es un reactivo de Factor Plaquetario 3 (tromboplastina parcial) que contiene un activador particulado para la determinación de Tiempo de Tromboplastina Parcial activada (TTPa).

RESUMEN Y PRINCIPIO

TriniCLOT Automated aPTT es un reactivo de Factor Plaquetario 3 (fosfolípidos de cerebro de conejo), conteniendo un activador particulado (sílice micronizada) y un tampón apropiado.¹ Es un reactivo para ser utilizado en determinación del Tiempo de Tromboplastina Parcial activada (TTPa), prueba sensible a todos los factores que intervienen en el sistema intrínseco de la coagulación, a excepción del Factor Plaquetario 3. Al mezclarse TriniCLOT Automated aPTT con el plasma, se obtiene un nivel óptimo de Factor Plaquetario 3 y una activación uniforme de la muestra. Después de un determinado período de incubación a 37°C, la reacción se inicia añadiendo solución de cloruro cálcico, midiendo el tiempo, en segundos, que transcurre hasta la formación del coágulo.

TriniCLOT Automated aPTT está indicado para ser empleado en la valoración de todos los factores del sistema intrínseco de la coagulación, incluyendo los Factores I, V, VIII, IX, X, XI y XII.^{7,8} Su especial sensibilidad a la presencia de heparina^{2,3,6,9} lo hace muy útil para el control de la terapéutica anticoagulante por heparina. No debe ser utilizado para el control de la terapéutica anticoagulante oral por ser insensible al Factor VII ni en el estudio de las alteraciones trombocitarias. Dichos estudios deben realizarse respectivamente, mediante el tiempo de protombina y el tiempo de sangría.⁸

REACTIVO

Para diagnóstico *in vitro*.

DESCRIPCIÓN DEL REACTIVO

TriniCLOT Automated aPTT, 10 x 6 ml, T1205A.

TriniCLOT Automated aPTT, 10 x 3 ml, T1206A.

Contiene: Fosfolípidos de cerebro de conejo, adicionado de partículas de sílice micronizada, que actúan como activador (superficie de contacto) y un tampón de ácido N-2-hidroxietilpiperazina- N-2-etanol sulfónico.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reconstituir con el volumen de agua purificada, Farmacopea de los EEUU o equivalente, indicada en el vial. Agitar vigorosamente hasta su completa rehidratación y suspensión de las partículas de sílice. Antes de usarlo, agitar de nuevo para asegurar la homogeneización de la suspensión una vez reconstituido el producto, anotar su fecha de caducidad, adicionando una semana a la fecha de reconstitución.

MATERIALES ADICIONALES NECESARIOS

Cloruro de Calcio, 0,025 M

Plasmas de control

Plasma deficiente de factor

MATERIALES DISPONIBLES

- Cloruro de Calcio, 0,025 M
- Controles y reactivos
- Instrumentos de coagulación

INSTRUMENTOS

Existen adaptadores de método/aplicaciones para analizadores específicos bajo petición. Para solicitar uno, póngase en contacto con su comercial local.

ALMACENAJE Y ESTABILIDAD

Mantener TriniCLOT Automated aPTT a 2-8°C cuando no se utilice. La fecha de caducidad impresa en el vial indica el límite de estabilidad del vial sin abrir. Una vez reconstituido el producto, anotar su fecha de caducidad, adicionando una semana a la fecha de reconstitución.

OBTENCIÓN Y ALMACENAJE DE MUESTRAS

Se deben obtener nueve volúmenes de sangre en un volumen de citrato de sodio al 3,2% (0,109 M). Inmediatamente después de obtener las muestras de sangre, las muestras se centrifugan a 1500 x g durante 15 minutos. Consulte la versión más reciente del documento H2: de CLSI para obtener instrucciones adicionales sobre la obtención y el almacenaje de muestras.¹⁰

PROCEDIMIENTO

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. No pipetear ninguno de los materiales con la boca. No fumar, comer o beber en las zonas en las que se manejan muestras o reactivos.
2. Utilizar guantes desechables y manejar con precaución todas las muestras de sangre utilizadas en la prueba, como capaces de transmitir agentes infecciosos. Consultar inmediatamente a un médico en caso de que sean ingeridos materiales con sangre o que se pongan en contacto con heridas abiertas, lesiones u otras faltas de continuidad de la piel.
3. Limpiar inmediatamente toda contaminación de la muestra con una solución al 1:10 de hipoclorito sódico al 5%. Eliminar el material de limpieza mediante un método aceptable.
4. Tratamiento de los productos hemáticos antes de tirarlos:
 - a. Autoclave durante 60 minutos a 121°C.

b. Incinerar los materiales desechables.

c. Mezclar el residuo líquido con solución de hipoclorito sódico al 5%, de modo que la concentración final sea aproximadamente de hipoclorito sódico al 1%. Dejar en reposo 30 minutos antes de la eliminación.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

El siguiente protocolo para la prueba de aPTT está indicado para técnica manual. Caso de emplearse un instrumento, deberá seguirse las instrucciones de acuerdo a dicho instrumento.

1. Calentar previamente a 37°C un volumen suficiente de solución de cloruro de calcio 0,025M.
2. Identificar un tubo de ensayo para cada muestra e analizar (pacientes y controles). Se aconseja hacer las pruebas por duplicado.
3. Dispensa 0,1 ml plasma a su tubo correspondiente. Añadir 0,1 ml de TriniCLOT Automated aPTT a cada tubo.
4. Incubar a 37°C durante 5 minutos exactos (tiempo de activación).
5. Inmediatamente añadir 0,1 ml de solución de cloruro de calcio 0,025 M (37°C). Simultáneamente poner el cronómetro en marcha y determinar la formación del coágulo.
6. Anotar el tiempo, en segundos, transcurrido hasta la formación del coágulo.

NOTAS Y PRECAUCIONES DE PROCEDIMIENTO

Es importante usar material muy limpio, de vidrio o de plástico. El tipo de material y el área total de contacto puede afectar la activación de las muestras. Por ello, se aconseja seguir una técnica uniforme y practicar las determinaciones por duplicado en todas las pruebas de coagulación.

Las muestras de plasmas hemolizados, icterémicos o lipémicos por lo general no interfieren en la determinación del tiempo de tromboplastina parcial activado. Sin embargo, cuando estas muestras se analizan en aparatos foto-ópticos, los resultados deben evaluarse cuidadosamente de acuerdo a las indicaciones del instrumento.

TriniCLOT Automated aPTT puede usarse en la mayoría de las técnicas manuales e instrumentales, aunque los diversos métodos o sistemas pueden dar resultados ligeramente diferentes. Es preciso tener cuidado cuando se comparan resultados obtenidos con métodos diferentes.

CONTROL DE CALIDAD

Para el control de las pruebas de coagulación se aconseja usar una serie de plasmas control, tales como TriniCHECK Level 1, 2, 3 o TriniCHECK Control 1, 2, 3. Estos controles deben usarse de acuerdo a las instrucciones incluidas con cada producto.

RESULTADOS

RESULTADOS ESPERADOS

Los tiempos de coagulación dependen de numerosos factores, tales como la temperatura, la calidad del agua, el pH, la concentración iónica, la técnica usada, el anticoagulante, la forma de obtener y conservar la muestra y el tipo de población en estudio. Cada laboratorio deberá establecer su propio intervalo de normalidad en relación a la prueba TTPa. A título de orientación se indican los datos que fueron obtenidos con plasmas citratados procedentes de distintas poblaciones de sujetos normales, varones (V) y hembras (H):

Sistema de Prueba	Nº. de Individuos	Edad Media (años)	Intervalo Normal Segundos ($\bar{x} \pm 2s$)
Foto-óptico	(H) 24	(H) 30	26-40
	(V) 6	(V) 31	
Mecánico	(H) 19	(H) 32	27-39
	(V) 6	(V) 31	
Manual	(H) 12	(H) 45	25-43
	(V) 6	(V) 62	

CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO

Estudios comparativos^{4,5} con otros productos comerciales para la determinación del TTPa usando activadores solubles o en partículas, han demostrado tanto la excelente sensibilidad de TriniCLOT Automated aPTT ante las deficiencias por los Factores VIII, IX, X, XI, XII y V, como el ser un reactivo óptimo para la valoración individual de estos factores.

En el siguiente cuadro se resumen los resultados de un estudio realizado para evaluar la precisión de TriniCLOT Automated aPTT, determinando la varianza debida a las diferencias observadas en los ensayos por duplicado. Estos estudios con carácter independiente, emplearon diferentes sistemas de valoración y muestras obtenidas de diversas poblaciones de individuos normales.

Sistema de Prueba	Nº. de Individuos	Desviación Estándar(s)
Foto-óptico	18	1,2
Foto-óptico	31	1,3
Foto-óptico	37	2,9
Manual	18	1,5
Mecánico	27	1,4
Mecánico	38	1,4

Otro estudio similar de TriniCLOT Automated aPTT se resume en el cuadro siguiente. En este caso se empleó un instrumento foto-óptico y muestras procedentes de plasmas con valores en el límite del intervalo normal y con valores anormales.

	Nº. de Individuos	Valor medio en Segundos	Desviación Estándar(s)
Plasmas en límite del intervalo normal	18	42,2	1,4
Plasmas anormales	29	52,5	1,2

Para cualquier consulta técnica en EE.UU., póngase en contacto con el Servicio Técnico de Tcoag en el número de teléfono 888 291 0415. Fuera de EE.UU., póngase en contacto con su representante de Tcoag.

REFERENCIAS

1. Babson, A.L. and Babson, S.R.: *Am. J. Clin. Path.* 62, 856 (1974).
2. Banez, E.I., Triplett, D.A. and Koepke, J.: *Laboratory monitoring of heparin therapy- the effect of different salts of heparin on the activated partial thromboplastin time. Laboratory monitoring of heparin therapy- the effect of different salts of heparin on the activated partial thromboplastin time.* *Am. J. Clin. Path.* 74, 569 (1980).
3. Brandt, J.T. and Triplett, D.A.: *Laboratory monitoring of heparin. Effect of reagents and instruments on the activated partial thromboplastin time.* *Am. J. Clin. Pathol.* 76 (suppl), 530 (1981).
4. Glynn, M.F.X. and Grady, M.: *Canad. J. Med. Tech.* 39, 45 (1977).
5. Hahnway, W.E., Assmus, S.L., Montgomery, R.R. and Dubansky, A.S.: *Activated partial thromboplastin time and minor coagulopathies.* *Am. J. Clin. Path.* 71, 22 (1979).
6. Lenahan, J.G., Frye, S. and Phillips, G.E.: *Use of the Activated Partial Thromboplastin Time in the Control of Heparin Administration.* *Clin. Chem.* 12, 263 (1966).
7. Lenahan, J.G. and Phillips, G.E.: *Some Variables Which Influence the Activated Partial Thromboplastin Time Assay.* *Clin. Chem.* 12, 269 (1966).
8. Male, J.B.: *LABORATORY MEDICINE: HEMATOLOGY*, 6th Ed., C.V. Mosby Company (1982).
9. Shapiro, G.A., Huntzinger, S.W. and Wilson, J.E.: *Variation among commercial activated partial thromboplastin time reagents in response to heparin.* *Am. J. Clin. Path.* 67, 477 (1977).
10. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays: Approved Guideline - Fifth Edition.* CLSI document H21-A5 Vol. 28, No. 5, 2008.

INFORMACIÓN SOBRE EL PEDIDO

Kit	TriniCLOT Automated aPTT	
Catalogue No.	Item	Quantity
T1205	TriniCLOT Automated aPTT 6 ml	10 x 6 ml
T1206	TriniCLOT Automated aPTT 3 ml	10 x 3 ml

ADDITIONAL REAGENTS AVAILABLE

Catalogue No.	Item	Quantity
T1902	TriniCLDT Calcium Chloride (0.025 M)	10 x 10 ml
T4111	TriniCHECK Level 1 (un-assayed)	10 x 1 ml
T4112	TriniCHECK Level 2 (un-assayed)	10 x 1 ml
T4113	TriniCHECK Level 3 (un-assayed)	10 x 1 ml
T4101	TriniCHECK Control 1 (assayed)	10 x 1 ml
T4102	TriniCHECK Control 2 (assayed)	10 x 1 ml
T4103	TriniCHECK Control 3 (assayed)	10 x 1 ml



Tcoag Ireland Limited,
 IDA Business Park,
 Southern Cross Road,
 Bray, Co. Wicklow,
 Ireland.
 Tel. + 353 12743200
 Fax + 353 127 4667 8
 www.tcoag.com
 info@tcoag.com



T1205-T1206 -29 Rev 8
 03/2011

Determinación cuantitativa de Fibrinógeno IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El Fibrinógeno, en presencia de un exceso de trombina, se transforma en Fibrina. El tiempo de formación del coágulo es inversamente proporcional a la concentración de Fibrinógeno presente en la muestra de plasma. La determinación de fibrinógeno por el tiempo de coagulación de trombina, está basada en el método descrito por Clauss¹. En presencia de altas concentraciones de trombina, el tiempo necesario para la formación del coágulo en el plasma diluido es inversamente proporcional a la concentración de fibrinógeno.

SIGNIFICADO CLÍNICO

El Fibrinógeno (Factor I), proteína sintetizada en el hígado, es un componente de la sangre utilizado para formar el coágulo. Su determinación nos ayuda a evaluar las alteraciones en los mecanismos de coagulación. La concentración de fibrinógeno se incrementa en inflamaciones agudas y embarazo; por el contrario se observan valores bajos en terapias trombolíticas, enfermedades hepáticas, disfibrinogenia congénita, DIC (Coagulación intravascular diseminada) y pancreatitis¹. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R1	Trombina bovina	≈ 100 u NIH/mL
R2	Tampón Imidazol	
R3	Solución Caolín	
Opcional	COAGULATION CAL	REF: 1709101
	CONTROL NORMAL	REF: 1709104
	CONTROL PATHOLOGIC	REF: 1709106

PREPARACIÓN

R1: Reconstituir (→) en 2,0 mL de agua destilada. Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido. Estabilidad: 7 días a 2-8°C o 1 mes a -20°C, si se congela inmediatamente y se conserva en el frasco original. No volver a congelar. Colocar en el analizador en la posición indicada.
R2: Agitar antes de usar y colocar en la posición indicada en el analizador.
R3: Agitar antes de usar, introducir agitador magnético en el frasco y colocar en la posición indicada en el analizador.

TRAZABILIDAD

El Calibrador de Coagulación es trazable para el Fibrinógeno al estándar de la OMS, 2º Estándar Internacional para Fibrinógeno, plasma (98/612).

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Resultados en el Control de calidad fuera de los rangos establecidos.
- Variaciones de color.

MATERIAL ADICIONAL

- BIOBAS1000.
- Consumibles BIOBAS1000.
- Equipamiento habitual de laboratorio^(Nota 1).

MUESTRAS

Plasma obtenido por punción venosa diluido 1/10 en solución de citrato trisódico 3,8% (105 mmol/L). Mezclar inmediatamente la sangre con el anticoagulante. Evitar la formación de espuma. Centrifugar la muestra a 3000 x g 10 min y transferir el plasma.

Usar sólo contenedores de vidrio siliconado o plástico.

Los plasmas turbios, ictericos, lipémicos o hemolizados pueden dar resultados erróneos.

La muestra es estable 4 horas a temperatura ambiente (15-25°C) o 28 días si se congela inmediatamente a -20°C.

NOTAS

1. El material de laboratorio usado debe estar libre de restos de detergente.
2. Seguir minuciosamente las instrucciones del fabricante del instrumento, los resultados obtenidos deben ser validados por el laboratorio.

PROCEDIMIENTO

Seguir las instrucciones del analizador BIOBAS1000.

CALIBRACIÓN

Utilizar el calibrador COAGULATION CAL con Ref. 1709101. Introducir la concentración del calibrador multiplicando la concentración real x10 debido a la dilución que se lleva cabo en el analizador. La curva de calibración debe seguir los siguientes parámetros:

Dilución del Calibrador	1/4	1/5	1/6	1/7	1/8	1/9
Concentración (mg/dL)	0.25 x c	0.2 x c	0.16 x c	0.14 x c	0.12 x c	0.11 x c

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

CONTROL NORMAL REF: 1709104

CONTROL PATHOLOGIC REF: 1709106

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos o la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

200 - 400 mg/dL¹ (2,00 - 4,00 g/L)

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Precisión:

Media (U/L)	Interserie (n= 30)		
	144	294	488
CV (%)	5,9	3,4	2,9

Exactitud: Los reactivos SPINREACT no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales.

INTERFERENCIAS Y LIMITACIONES

Se han observado interferencias relevantes en muestras con productos de degradación del Fibrinógeno. Las reacciones inflamatorias agudas pueden aumentar el fibrinógeno circulante. La hemólisis puede causar activación de los factores de coagulación e interferir en la detección del punto final. Los niveles altos de paraproteína y de fármacos que activan el sistema fibrinolítico pueden interferir en las determinaciones de fibrinógeno. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en su determinación^{2,3}.

BIBLIOGRAFÍA

1. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
2. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

PRESENTACIÓN

Ref: 1709212	Cont.	R1: 4 x 2 mL
		R2: 4 x 4 mL
		R3: 1 x 3.5 mL



**Quantitative determination of Fibrinogen
IVD**

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

Fibrinogen in presence of an excess of thrombin concentration, changes into Fibrin.

The time for clot formation in dilute plasma is inversely proportional to the fibrinogen concentration in the sample.

The thrombin clotting time fibrinogen assay is based on the method originally described by Clauss.¹ In the presence of high concentrations of thrombin, the time required for clot formation in dilute plasma is inversely proportional to the fibrinogen concentration.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Fibrinogen (Factor I), protein synthesized by the liver, is the substance used in the blood to form a clot. Its determination is used to evaluate abnormal blood clotting.

Elevated Fibrinogen levels are observed in acute inflammations and in pregnancy; low values are observed in trombotic therapy, in hepatic disease, in the congenital non fibrinogen, in DIC (Disseminated Intravascular Coagulation) and in pancreatitis (low values)¹.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R1	Bovine thrombin	≈ 100 NIH u /mL
R2	Imidazole Buffer	
R3	Caolin Solution	
Optional	COAGULATION CAL	REF: 1709101
	CONTROL NORMAL	REF: 1709104
	CONTROL PATHOLOGIC	REF: 1709106

PREPARATION

R1: Dissolve (→) the contents with 2.0 mL of distilled water. Cap vial and mix gently to dissolve contents. Stability: 7 days at 2-8°C or 1 month at -20°C, if immediately frozen and stored in the original container. Do not re-freeze. Place the bottle in the position indicated in the analyzer.

R2: Mix before use and place the bottle in the position indicated in the analyzer.

R3: Mix before, introduce magnetic stirrer in the bottle and place the bottle in the position indicated in the analyzer.

TRACEABILITY

The Coagulation Calibrator is traceable for Fibrinogen to the WHO standard, 2nd International Standard for Fibrinogen, plasma (98/612).

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Quality control values outside established ranges.
- Product colour variations.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- BIOBAS1000.
- BIOBAS1000 consumables.
- General laboratory equipment (Note 3).

SAMPLES

Plasma from venous puncture diluted 1/10 in trisodium citrate solution 38% (105 mmol/L).

Mixing immediately the blood with anticoagulant. Avoid foaming the specimen. Centrifuge the sample at 3000 x g for 10 min and transfer the plasma to siliconized glass or plastic containers.

Turbid, icteric, lipemic or hemolyzed samples may generate erroneous results. The sample is stable for 4 hours at room temperature (15-25°C) or 28 days if immediately frozen at below 20°C.

NOTES

1. All labware must be clean and free of trace amounts of detergents.
2. Always follow instrument manufacturer's instructions; the results must be validated by the test laboratory.

PROCEDURE

Follow BIOBAS1000 analyzer's instructions.

CALIBRATION

Use calibrator COAGULATION CAL with Ref. 1709101. Introduce calibrator's concentration multiplying it by *10 due to the sample dilution procedure. Calibration curve should follow the following standard values:

Calibrator Dilution	1/4	1/5	1/6	1/7	1/8	1/9
Concentration (mg/dL)	0.25 x c	0.2 x c	0.16 x c	0.14 x c	0.12 x c	0.11 x c

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures:

CONTROL NORMAL REF: 1709104

CONTROL PATHOLOGIC REF: 1709106

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES

200 - 400 mg/dL¹ (2.00 - 4.00 g/L)

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Precision:

Mean (U/L)	Inter-assay (n=30)		
	144	294	488
CV (%)	5.9	3.4	2.9

Accuracy: Results obtained using SPINREACT reagents did not show systematic differences when compared with other commercial reagents.

INTERFERENCES AND LIMITATIONS

Has been observed interferences in samples with fibrinogen degradation. Acute inflammatory reactions can elevate circulating fibrinogen. Hemolysis can cause clotting factor activation and end point detection interference. High paraprotein levels, and drugs that activate the fibrinolytic system can interfere with fibrinogen assays. A list of drugs and other interfering substances with the determination has been reported^{2,3}.

BIBLIOGRAPHY

1. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
2. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.

PACKAGING

Ref: 1709212	Cont.	R1: 4 x 2 mL
		R2: 4 x 4 mL
		R3: 1 x 3.5 mL



COD 11743 20 mL (para 1000 mL)	COD 11744 1 mL	COD 11753 20 mL (para 1000 mL) + 1 mL
CONSERVAR A 2-8°C		
Reactivos para medir la concentración de hemoglobina Sólo para uso <i>in vitro</i> en el laboratorio clínico		

HEMOGLOBIN



HEMOGLOBINA
ICSH

FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El ión ferroso de la hemoglobina se oxida a ión férrico por acción del ferricianuro potásico formándose hemiglobina (metahemoglobina). La hemiglobina reacciona con el cianuro para formar cianhemoglobina (cianmetahemoglobina) que se puede medir por espectrofotometría^{1,2}.

CONTENIDO

	COD 11743	COD 11744	COD 11753
A. Reactivo	1 x 20 mL	—	1 x 20 mL
S. Patrón	—	1 x 1 mL	1 x 1 mL

COMPOSICIÓN

A. Reactivo Concentrado (50x). Ferricianuro de potasio 30,3 mmol/L, cianuro de potasio 7⁷ mmol/L, dihidrógeno fosfato de potasio 51,4 mmol/L, detergente no iónico 25 g/L.

Nota (Xn): R20/21/22: Nocivo por inhalación, por ingestión y en contacto con la piel. S1: Manténgase el recipiente bien cerrado. S28.1: En caso de contacto con la piel, lávese inmediatamente y abundantemente con agua. S45: En caso de accidente o malestar, acuda inmediatamente al médico.

La concentración de cianuro presente en un frasco de reactivo es sensiblemente menor que la dosis mínima letal para un adulto. No obstante, la acidificación ocasiona liberación de ácido cianhídrico por lo que debe evitarse el contacto del reactivo con ácidos.

S. Patrón de Hemoglobina. Hemoglobina humana. La concentración viene indicada en la etiqueta. El valor de concentración es trazable al Patrón de Referencia Certificado 522 (IFMM).

La sangre humana utilizada en la preparación del patrón era negativa para el antígeno HBs y para los anticuerpos anti-HCV y anti-HIV. Sin embargo, el patrón debe tratarse con precaución como potencialmente infeccioso.

CONSERVACIÓN

Conservar a 2-30°C (Reactivo) y a 2-8°C (Patrón).

El Reactivo y el Patrón son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se conserven bien cerrados, se evite la contaminación durante su uso y se mantengan protegidos de la luz.

Indicaciones de deterioro:

- Reactivo: Presencia de partículas, turbidez, absorbancia del blanco superior a 0,010 a 540 nm (cubeta 1 cm).
- Patrón: Presencia de partículas, turbidez.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Reactivo de Trabajo: Diluir el contenido del frasco de Reactivo Concentrado hasta 1000 mL con agua destilada. Agitar. Si se desea preparar otros volúmenes, mezclar en la proporción: 1 mL de Reactivo.

Concentrado + 49 mL de agua destilada. Conservar el reactivo diluido en un frasco tapado. Esta bibe 6 meses a 15-30°C. No congelar.

EQUIPO ADICIONAL

- Analizador, espectrofotómetro o fotómetro para lecturas a 540 ± 20 nm
- Cubetas de 1 cm de paso de luz (si se utiliza el factor en los cálculos)

MUESTRAS

Sangre capilar o venosa recogida mediante procedimientos estándar y con heparina o EDTA como anticoagulante.

La hemoglobina en sangre es estable 6 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Pipetear en tubos de ensayo. (Nota 1)

	Blanco	Patrón	Muestra
Patrón (S), opcional (Nota 2)	—	10 µL	—
Muestra	—	—	10 µL
Reactivo de Trabajo	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL

- Agitar bien y dejar durante 3 minutos a temperatura ambiente.
- Leer la absorbancia (A) del Patrón y de la Muestra a 540 nm frente al Blanco. El color es estable durante varias horas.

CÁLCULOS

La concentración de hemoglobina en la muestra se calcula a partir de la fórmula (Nota 2):

Con Patrón:

$$\frac{A_{\text{Muestra}}}{A_{\text{Patrón}}} \times C_{\text{Patrón}} = C_{\text{Muestra}}$$

Sin Patrón:

$$A_{\text{Muestra}} \times 3,7,5 = C_{\text{Muestra}}$$

VALORES DE REFERENCIA

	Hombres ³	Mujeres ³
12-14 años	12,0-16,0 g/dL	11,5-15,0 g/dL
15-17 años	11,7-16,6 g/dL	11,7-15,3 g/dL
18-74 años	13,5-17,5 g/dL	12,0-16,0 g/dL

Las personas que viven en lugares de altitud superior a los 1000 m muestran valores significativamente más elevados. En mujeres sanas embarazadas se encuentran generalmente valores más bajos de hemoglobina³.

Estos valores se dan únicamente a título orientativo; es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de materiales de control comerciales de sangre total para verificar la funcionalidad del procedimiento de medida.

Cada laboratorio debe establecer su propio programa de Control de Calidad interno, así como procedimientos de corrección en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias aceptables.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

- Límite de detección: 0,2 g/dL hemoglobina
- Límite de linealidad: 20 g/dL. Cuando se obtengan valores superiores, diluir la muestra 1/2 con agua destilada y repetir la medición.
- Repetibilidad (intraserie):

Concentración media	CV	n
10 g/dL	2,3%	20
15 g/dL	1,1%	20

- Reproducibilidad (interserie):

Concentración media	CV	n
10 g/dL	3,1%	25
15 g/dL	2,1%	25

- Sensibilidad: 26,3 ΔmA-dL/g.
 - Veracidad: Los resultados obtenidos con estos reactivos no muestran diferencias sistemáticas significativas al ser comparados con reactivos de referencia (Nota 2). Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.
 - Interferencias: La bilirrubina no interfiere. La lipemia puede originar resultados falsamente elevados, debidos a la turbidez. Otros medicamentos y sustancias pueden interferir.
- Estos datos han sido obtenidos utilizando un analizador. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento o realizar el procedimiento manualmente.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

La hemoglobina es una proteína pigmentada de color rojo transportadora de oxígeno que se encuentra en los eritrocitos de los vertebrados. Es un tetramero con dos pares de cadenas polipeptídicas diferentes. Cada una de ellas posee un derivado de la porfirina llamado grupo hemo, que a su vez contiene hierro.

Las concentraciones de hemoglobina están influidas por variaciones fisiológicas como la edad, sexo, deshidratación, postura y altitud, y por procesos patológicos. Se encuentran valores patológicos en anemias y en policitemias.

Las tres causas principales de anemia son: alteración en la síntesis de los eritrocitos en la médula ósea, pérdidas de sangre excesivas y transporte alterado de eritrocitos hacia sangre periférica^{3,5}.

Se observan valores de hemoglobina elevados en policitemia vera, eritrocitosis, deshidratación, recién nacidos, cianosis congénita o adquirida, enfermedad renal y pulmonar crónica, quistes renales y en una serie de tumores productores de eritropoyetina^{3,5}.

El diagnóstico clínico no debe realizarse teniendo en cuenta el resultado de un único ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

NOTAS

- Este reactivo puede utilizarse en la mayoría de los analizadores automáticos. Solicite información a su distribuidor.
- La calibración con el factor puede causar sesgos. En estos casos se recomienda calibrar usando el Patrón de Hemoglobina (cod 11744).

BIBLIOGRAFÍA

- International Committee for Standardization in Haematology. Recommendations for reference method for haemoglobinometry in human blood (ICSH Standard EP 6/2 1977) and specifications for international haemoglobinocyanide reference preparation (ICSH Standard EP 6/3: 1977). J Clin Pathol 1978; 31: 139-143.
- Van Kampen EJ and Zijlstra WG. Standardization of hemoglobinometry: the hemoglobinocyanide method. Clin Chim Acta 1961; 6: 538-544.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1999.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.