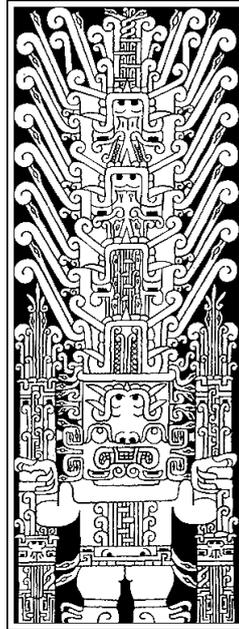


UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL

FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA

ESCUELA PROFESIONAL DE LABORATORIO Y ANATOMIA PATOLÓGICA

ESPECIALIDAD DE LABORATORIO Y ANATOMIA PATOLÓGICA



TESIS

“INTERVALOS DE REFERENCIA EN PRUEBAS DE
COAGULACIÓN EN DONANTES SANOS DEL INEN – LIMA
2016”

Tesis para optar el Título de Licenciada en Tecnología Médica

Autor: Gianina Susan Ballez Rojas

Lima – Perú

2018

DEDICATORIA

A mi madre por todo su amor, comprensión y sacrificio brindado en cada momento de mi vida; y a todas las personas que hicieron posible el desarrollo de mi tesis para poder seguir creciendo profesionalmente.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia por ser el pilar de superación en mi vida.

A mi asesor: Mg. Avelino Callupe Paul, por su apoyo incondicional, orientación y ser el guía en el desarrollo de mi tesis.

A la empresa Diagnóstica UAL y a la Dra. Vilma Herrera Valverde por confiar, e impulsar la investigación y de esta manera ser parte fundamental de este trabajo.

Asesor: Mg. Paul Avelino Callupe

INDICE

RESUMEN	9
---------------	---

INTRODUCCIÓN	11
--------------------	----

CAPITULO I PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Identificación y descripción del problema.....	13
1.2 Formulación de las preguntas general y específicas.....	13
1.3 Objetivos : General y Específicos	15
1.4 Justificación	15
1.5 Limitaciones	16

CAPITULO II MARCO TEÓRICO

2.1 Bases teóricas.....	17
2.2 Variables	35
2.3 Términos básicos	36

CAPITULO III MÉTODO

3.1 Tipo y diseño de estudio	37
3.2 Población y muestra.....	37
3.3 Operacionalización de variables	39

3.4 Instrumento de recolección de datos	40
3.5 Análisis de datos	41
CAPITULO IV RESULTADOS	42
DISCUSIÓN	55
CONCLUSIONES	57
RECOMENDACIONES.....	59
CAPITULO V	
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
ANEXOS	63

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Gráficos Box-plots de los parametros hemostaticos en la población general.....	42
Figura 2. Histograma y gráfico Q-Q plots del tiempo protrombina	43
Figura 3. Histograma y gráfico Q-Q plots del tiempo trombina.....	43
Figura 4. Histograma y gráfico Q-Q plots del ttpa	43
Figura 5. Histograma y gráfico Q-Q plots del fibrinógeno.....	44
Figura 6. Gráficos Box-plots del tiempo protombina según el sexo.	46
Figura 7. Gráficos Box-plots de ttpa según el sexo.	48
Figura 8. Gráficos Box-plots de tiempo trombina según el sexo.....	50
Figura 9. Gráficos Box-plots del fibrinógeno según el sexo.	52

LISTA DE TABLAS

Tabla N° 1 Fármacos que afectan las pruebas de laboratorio.....	25
Tabla N° 2 Alteraciones causadas por estasis venosa prolongada.....	25
Tabla N° 3 Relación sangre anticoagulante con respecto al hematocrito.....	20
Tabla N° 4 Características de la población de referencia.....	42
Tabla N° 5 Distribución de los parametros hemostaticos en la población general.....	44
Tabla N° 6 Estadística descriptiva de los parametros hemostáticos en la población general	45
Tabla N° 7 Intervalo de referencia hemostaticos en la población general.....	45
Tabla N° 8 Distribución de tiempo protrombina según el sexo.....	46
Tabla N° 9 Intervalos de referencia hemostaticos según el sexo.....	47
Tabla N° 10 Diferencias significativas según el sexo.....	47
Tabla N° 11 Distribución de tiempo tromboplastina parcial activada según el sexo.....	48
Tabla N° 12 Intervalos de referencia hemostaticos según el sexo.....	49
Tabla N° 13 Diferencias significativas según el sexo.....	49
Tabla N° 14 Distribución de tiempo trombina según el sexo.....	50
Tabla N° 15 Intervalos de referencia hemostaticos según el sexo.....	51
Tabla N° 16 Diferencias significativas según el sexo.....	51
Tabla N° 17 Distribución del fibrinógeno según el sexo.....	52
Tabla N° 18 Intervalo de referencia hemostático según el sexo.....	53
Tabla N° 19 Diferencias significativas según el sexo.....	53
Tabla N° 20 Intervalos de referencia obtenidos frente a otros estudios.....	54

RESUMEN

Introducción: Los parámetros hemostáticos nos permiten detectar alteraciones en el mecanismo de la coagulación, debido a variables interindividuales e intraindividuales que pueden alterar los valores de referencia, se ve en la necesidad que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia de acuerdo a su población. **Objetivo:** Determinar los intervalos de referencia en pruebas de coagulación en donantes sanos del INEN Lima – 2016. **Tipo y diseño:** Descriptivo, prospectivo de corte transversal.

Población y muestra: Está conformada por donantes calificados como aptos y que consignan su consentimiento informado para el estudio, en el mes de Diciembre 2015 a Febrero del 2016. La muestra consiste en el plasma obtenido de 240 donantes aptos del banco de sangre del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. **Recolección de datos:** La selección del donante se obtuvo mediante una encuesta y exámenes de tamizaje; de los cuales se obtuvieron las muestras que fueron procesadas en el analizador ACL-TOP500, los intervalos de referencia se obtuvieron usando los métodos paramétricos y no paramétricos según las recomendaciones de la CLSI-C28-A3. **Resultados:** Se obtuvieron los siguientes intervalos de referencia para los parámetros hemostáticos, para el tiempo de protrombina fue de 9.88 - 12.36 seg, tiempo de tromboplastina parcial activada fue de 26.00 -36.10 seg, para el tiempo de trombina fue de 16.94 - 21.00 seg. y para el fibrinógeno de 215.1 - 393.0 mg/dl. **Conclusiones:** Se determinó estadísticamente diferencias significativas entre hombres y mujeres para el tiempo protrombina y fibrinógeno. Se obtuvieron intervalos de referencia diferentes a los propuestos por la casa comercial. La importancia de cada laboratorio para determinar sus intervalos de referencia de acuerdo a su población y grupo etario, y se confirma el género como un factor de variabilidad en los parámetros hemostáticos para el fibrinógeno y tiempo de trombina.

Palabras claves: intervalo de referencia; hemostasia; población; ACL-TOP500

ABSTRACT

Introduction: The hemostatic parameters allow us to detect alterations in the coagulation mechanism, due to interindividual and intraindividual variables that can alter the reference values, it is necessary for each laboratory to establish its own reference values according to its population. **Objective:** To determine the reference intervals in coagulation tests in healthy donors of INEN – Lima, 2016. **Type and design:** Descriptive, prospective cross-sectional study. **Population and sample:** It is made up of qualified qualified donors and who consents their informed consent for the study, in the month of December 2015 to February 2016. The sample consists of the plasma obtained from 240 eligible donors of the blood bank of the National Institute of Neoplastic Diseases. **Data collection:** The selection of the donor was obtained through a survey and screening tests; from which the samples that were processed in the ACL-TOP500 analyzer were obtained, the reference intervals were obtained using parametric and non-parametric methods according to the CLSI-C28-A3 recommendations. **Results:** The following reference intervals were obtained for hemostatic parameters, for prothrombin time was 9.88 – 12.36 sec, activated partial thromboplastin time was 16.94 – 21 sec, for thrombin time was 16.94 - 21.00 sec, and for fibrinogen was 215.1 – 393 mg/dl.

Conclusions: Significant differences were statistically determined between men and women for prothrombin time and fibrinogen. Reference ranges other than those proposed by the manufacturer's study were obtained. The importance of each laboratory to determine its reference intervals for its population and age group, and to confirm gender as a factor of variability in hemostatic parameters for fibrinogen and thrombin time.

Key words: Reference interval; hemostasis; population; ACL-TOP500

INTRODUCCIÓN

El proceso de la hemostasia nos permite evaluar alteraciones en el sistema de la coagulación para los cuales tenemos parámetros hemostáticos que nos indican a que nivel se está produciendo el daño en el sistema hemostático. Estos parámetros básicos son las pruebas de tiempo de protrombina, tiempo de tromboplastina parcial activada, tiempo trombina y fibrinógeno. Para poder hacer la interpretación de estas pruebas es necesario poder tener un valor de referencia de acuerdo a nuestra población y en las mismas condiciones en el proceso del análisis, de esta manera se contribuye a una mejor interpretación en los resultados.

Dentro de las consideraciones que se deben tener en la elaboración de los resultados del laboratorio clínico está la correcta integración de valores de referencia considerando que el «valor de referencia» se define como el conjunto finito de valores desde un límite inferior hasta uno superior contra el cual se compara el valor obtenido en una medición y que se obtiene al evaluar una población sana caracterizada por sexo, raza y edad.

Para el presente estudio se consideró los siguientes antecedentes:

Díaz (2014), en su estudio realizó la determinación de intervalos de referencia para las pruebas básicas de coagulación en la población mexicana. Su objetivo fue determinar los valores de referencia de la población mexicana que acudieron al laboratorio Carpemor; se evaluó 45,129 resultados, obteniéndose los intervalos de referencia como sigue: Tiempo protrombina de 9.9 - 12.9 seg. Tiempo de tromboplastina parcial activada 23.8 - 39.9 seg. Tiempo trombina de 15.7 - 21.5 seg. y fibrinógeno a una concentración de 140 - 566 mg/dl.

Calzada (2012), en su trabajo realizó los valores de referencia para pruebas de coagulación en México. Utilizando la mezcla de plasma de donadores de sangre. El objetivo de su trabajo fue establecer los valores de referencia de las pruebas de coagulación utilizando la mezcla de plasmas de donadores; de un total de 1440 donantes de sangre se obtuvieron 72 mezclas de plasma en las cuales los resultados para el tiempo de protrombina fue de 12.5 – 13.7 seg. para el tiempo de tromboplastina parcial activada de 30.0 – 33.0 seg. y para el tiempo de trombina fue 17.7 – 20.0 seg.

Hernández (2009), realizó los valores de referencia de la actividad de los factores de la fase fluida de la hemostasia en la población mexicana indígena y mestiza. El objetivo fue establecer los valores de referencia de la actividad de los factores de la fase fluida de la hemostasia. Se realizó el estudio en 120 individuos mexicanos, los cuales comprendieron 60 individuos mestizos y 60 individuos indígenas. Los resultados para el tiempo de protrombina fue de 12 -15 seg, para el grupo indígena y de 11 -15 seg, para los mestizos. Para tiempo de tromboplastina parcial activada fue de 29 – 41 seg, para el grupo indígena y de 26 – 38 seg. para los mestizos. Para tiempo de trombina en los indígenas fue de 16 – 20 seg. No se realizó la prueba del tiempo de trombina en la población mestiza mexicana.

Urquiza (2013), determinó los intervalos de referencia en adultos sanos para las pruebas de tiempo de protrombina, tiempo de tromboplastina parcial activada, tiempo de trombina y fibrinógeno en el analizador Stat compact (stago). El objetivo fue establecer los intervalos de referencia en adultos sanos para las pruebas de coagulación (tiempo protrombina, tiempo tromboplastina parcial activada, tiempo trombina y fibrinógeno) en el analizador Stat compact (stago) en el laboratorio de hematología del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. El estudio se realizó en 240 adultos sanos (120 mujeres y 120

hombres). Los resultados obtenidos de los intervalos fueron: Tiempo protrombina 9.9 – 12.4 seg. Tiempo tromboplastina parcial activada 32.24- 36.9 seg. Tiempo trombina 14.7 – 17.35 seg. y la concentración de fibrinógeno fue de 269 – 482 mg/dl.

El objetivo principal del presente trabajo fue determinar los intervalos de referencia en pruebas de coagulación en donantes sanos del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas.

CAPITULO I PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Identificación y descripción del problema

La importancia de las pruebas de coagulación, se basa en el hecho de que estas permiten evaluar el estado hemostático del paciente, vital para la utilidad del médico en contextos como el diagnóstico de aquellos pacientes con alteraciones de coagulación, para el monitoreo de estas coagulopatias y el conocer el estado en que se encuentra un paciente que va a ser transfundido, mediante la interpretación de los resultados, el medico brindará las bases necesarias para el buen manejo clínico.

Pero ¿Cómo hacer posible una buena interpretación de resultados para pruebas de coagulación sino se determina valores referenciales en nuestra propia población? En el Perú se emplean para los valores de referencia de estudios realizados por los fabricantes de reactivos, el cual exponen en sus insertos los valores obtenidos; el cual es una inadecuada práctica para el laboratorio, ya que estos valores se obtuvieron en poblaciones diferentes a la realidad del laboratorio. Información que ha sido comparada como inadecuada praxis en muchas investigaciones. Es así que esta investigación tiene como objetivo determinar los valores de referencia de tiempo de

protrombina, tiempo de tromboplastina parcial activada, tiempo de trombina y fibrinógeno propios de la población estudiada para garantizar una correcta interpretación de los resultados de las pruebas de coagulación usados en el laboratorio del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas.

Los intervalos de referencia para pruebas de coagulación como tiempo protrombina, tiempo parcial de tromboplastina activada, tiempo trombina y fibrinógeno en el Perú son copiados en su gran mayoría de los usuarios que exponen sus reactivos desde hace muchos años. Sin embargo en la población peruana hay pocos estudios sobre dichos valores de referencia. Por tanto los proveedores sugieren que cada laboratorio debe determinar sus propios intervalos de referencia bajo su ámbito.

Las pruebas de coagulación que se realizan en el laboratorio, son herramientas importantes para evaluar la fisiología de la hemostasia. Para hacerlas útiles al clínico y que le permitan tomar una decisión diagnóstica o terapéutica donde es necesario garantizar la calidad de los resultados.

Debido a ello en la investigación se determinó los intervalos de referencias para tiempo Protrombina, tiempo parcial de tromboplastina activada, tiempo trombina, fibrinógeno, por el método foto-óptico en nuestra población. Los valores referenciales obtenidos ayudaran a una mejor interpretación terapéutica y a la monitorización en los diferentes trastornos de la hemostasia de los pacientes oncologicos del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas.

Asimismo, la investigación permitió conocer con fundamento si se requiere modificar dichos valores, o ajustar los estándares de atención en las alteraciones de la coagulación y de esta manera contribuir a obtener valores de referencia acorde con la población peruana.

1.2 Formulación de las preguntas general y específicas

Pregunta General

¿Cuáles son los intervalos de referencia en las pruebas de coagulación en donantes sanos del INEN - Lima 2016?

Preguntas específicas:

¿Cuáles son los intervalos de referencia en pruebas de coagulación según el sexo en donantes sanos del INEN –Lima 2016?

1.3 Objetivos

Objetivo general

Determinar los intervalos de referencia en pruebas de coagulación en donantes sanos del INEN – Lima 2016.

Objetivos específicos:

Determinar el intervalo de referencia del tiempo protrombina, tiempo tromboplastina parcial activada, tiempo de trombina y fibrinógeno en donantes sanos del INEN- Lima 2016, según el sexo.

1.4 Justificación

Los intervalos de referencia para las pruebas de la coagulación son establecidos en su gran mayoría por los fabricantes, sin embargo en nuestra población hay pocos estudios sobre dichos intervalos. Existen varios proveedores comerciales que ofrecen sus valores esperados de rangos de referencia en una población diferente a la nuestra, por ende los fabricantes sugieren que cada laboratorio verifique sus propios rangos de

normalidad debido a las variables que puedan afectar las pruebas de coagulación, lo cual es importante para el seguimiento y pronóstico de los pacientes.

Es importante acotar que los valores de referencia dependen de la población a la que el laboratorio clínico presta sus servicios y también la tecnología que utiliza para realizar la prueba, en consecuencia cada laboratorio debe establecer sus valores de referencia acorde a la población de pacientes a las cuales presta sus servicios.

El presente estudio pretende contribuir a que el laboratorio de hematología del Inen, tenga sus propios intervalos de referencia para las principales pruebas de coagulación que se reportan. Por consiguiente los intervalos de referencia obtenidos se utilicen para ser transferidos y de esta manera el proveedor obtenga intervalos de referencia en la población peruana.

1.5 Limitaciones

El proceso de la hemostasia implica una serie de reacciones que están influenciadas por factores pre analítico para lo cual es necesario controlar estas condiciones para obtener resultados confiables. Es el tiempo circadiano, que implica el tomar a una hora determinada las muestras, así como la preparación previa de los donantes para la recolección de la toma de muestra, las cuales son variables pre-analíticas que en su mayoría no se pueden controlar en su totalidad.

El presente estudio es factible debido que cuenta con los recursos financieros y materiales, los cuáles son otorgados por la empresa proveedora UAL.

CAPITULO II MARCO TEÓRICO

2.1 Bases teóricas

2.1.1. Sistema hemostático. Furie (Como se citó en Páramo, Panizo, Pegenaute y Lecumberri, 2009) afirma: “La hemostasia es un mecanismo de defensa que protege al organismo de las pérdidas sanguíneas que se producen tras una lesión vascular” (p.19).

Según la visión actual, la coagulación se produce en tres etapas interrelacionadas: La fase de iniciación, que tiene lugar a nivel de células productoras de FT, como fibroblastos o monocitos, y con lleva la generación de los factores Xa, IXa y pequeñas cantidades de trombina, suficientes para iniciar el proceso. La fase de amplificación se traslada a la superficie de las plaquetas, que son activadas por la trombina generada y acumulan factores y cofactores en su superficie, permitiendo el ensamblaje necesario para que tengan lugar las reacciones enzimáticas. Finalmente, en la fase de propagación, las proteasas se combinan con los cofactores en la superficie plaquetar, promoviendo la generación de grandes cantidades de trombina que favorecen la formación de fibrina y su ulterior polimerización para constituir un coágulo estable.

(Paramo et al., 2009, p.19)

2.1.2. Fisiología de la coagulación. Sigue una secuencia de eventos los cuales son la hemostasia primaria y secundaria.

Hemostasia primaria. Furie (Como se citó en Páramo, Panizo, Pegenaute y Lecumberri, 2009) afirma: “Es el proceso de formación del tapón plaquetario iniciado ante una lesión vascular, llevándose a cabo una estrecha interacción entre el endotelio

y la plaqueta. En la hemostasia primaria existen una serie de mecanismos que se desencadenan durante una lesión vascular y que permitirán la formación del tapón hemostático plaquetario. Dichos mecanismos se ordenan en las siguientes fases: 1) adhesión, 2) activación y secreción, y 3) agregación.

Ante una lesión vascular, las plaquetas se unen al subendotelio o al tejido peri vascular expuesta a la sangre. Este proceso inicial se llama adhesión plaquetaria. Aunque el endotelio tiene múltiples proteínas adhesivas, la más importante para la adhesión plaquetaria es el colágeno. La unión de las plaquetas a las proteínas adhesivas depende de receptores específicos para cada proteína adhesiva en la membrana plaquetaria. El colágeno se une a la plaqueta mediante la GPIb/IX y el factor de von Willebrand (FvW), éste se une al colágeno y cambia su conformación, lo que permite que la GPIb/ IX se le una, fijando la plaqueta al colágeno. Al activarse, las plaquetas cambian de forma y se convierten en esferas con pseudópodos. Simultáneamente, ocurre la secreción plaquetaria de sustancias activas almacenadas en los gránulos (adenosina trifosfato, factor plaquetario 4, calcio serotonina, factor de crecimiento derivado de plaquetas, tromboxano A₂, factor V, fibrinógeno). Algunas de estas sustancias consideradas agonistas aceleran la formación del coágulo plaquetario y la reparación tisular (epinefrina, trombina, adenosín trifosfato, colágeno, tromboxano A₂). Los agonistas estimulan la unión de unas plaquetas con otras, el reclutamiento de más plaquetas y el crecimiento del coágulo se conoce como agregación plaquetaria. En este punto, el coágulo es una masa de plaquetas degranuladas, empacadas estrechamente y rodeadas de muy poca fibrina. Para la agregación se requiere fibrinógeno y su receptor, la GPIIb/IIIa. La membrana de las plaquetas activadas también ofrece el ambiente ideal para acelerar la generación de fibrina, al proveer de fosfolípidos necesarios para la formación del coágulo definitivo,

principalmente una lipoproteína denominada factor plaquetario 3. Además, la membrana plaquetaria activada tiene otros fosfolípidos, ligandos para los factores Va, VIIIa, IXa y Xa. Acelera y localiza la activación del factor II y X en el sitio de la lesión vascular, y protege al factor Xa de la inhibición por AT III. (Flores, Meza, Nava y Ramírez, 2004, p.s382)

Hemostasia secundaria. “La hemostasia secundaria comprende la activación del sistema de coagulación y de acuerdo con el modelo celular se divide en tres fases: iniciación, amplificación y propagación” (Flores et al., 2004, p.s383)

Modelo celular de la Coagulación. De acuerdo con el modelo celular de la coagulación, la vía intrínseca en un amplificador iniciado por la vía extrínseca a través de la expresión del factor tisular y la subsecuente cadena de eventos propiciados por la expresión de macropartículas en la superficies celulares que favorecen la unión, activación e inhibición de las proteasas procoagulantes. El modelo celular Identifica a la membrana de células expresadoras de FT (fibroblastos, monocitos y neutrófilos), principalmente las plaquetas, como los sitios donde la activación de la coagulación tiene lugar, enfatizando en la interacción entre los factores y los receptores celulares. Así mismo determina la importancia del complejo TF/FVIIa en la activación del sistema, considerando un proceso en tres fases simultáneas. (Espitia, 2015, p.s143)

Fase de iniciación. Esta fase inicia cuando la vasculatura es dañada y las células endoteliales como las células musculares lisas, los fibroblastos, monocitos, células mononucleares son expuestas al flujo sanguíneo, lo que provoca la liberación de micro

partículas que expresan factor tisular (FT) inactivo en sus superficies. Este FT se une al factor VII, actuando como cofactor y activándolo, formando el complejo FT/FVIIa que activará directamente al factor X e indirectamente al FIX, lo que permite que el FXa se una al FVa para formar un complejo protrombinasa en las superficies fosfolípicas de células productoras de FT que convierte la protrombina (FII) en trombina en cantidades no suficientes para la formación de fibrina. Proteasas como el inhibidor de factor tisular (TFPI) y la inhibidora de antitrombina limitan la difusión. (Espitia, 2015, p.s144)

Fase de amplificación. La trombina acumulada, activa las plaquetas adheridas al colágeno subendotelial por un receptor específico (la glicoproteína Ia /IIa) y el factor de Von Willebrand, que forma uniones entre las fibras de colágeno y las plaquetas para activarlas. La trombina activa el FV, amplificando la actividad protrombinasa y convirtiendo FVIII en activado, el cual funciona como cofactor del FIXa para mantener la generación del FXa, así mismo la trombina convierte FXI en FXIa. La plaqueta contiene en estos momentos factores activados además de factor de Von Willebrand en su superficie (Figura 2). En esta fase se lleva a cabo la activación de los anticoagulantes naturales: TFPI (inhibidor del complejo TF/FVIIa), antitrombina y proteína C, importantes en la regulación procoagulante. (Espitia, 2015, p.s144)

Fase de propagación. En las superficies celulares ricas en fosfolípidos procoagulantes, principalmente en las plaquetas, el factor XIa convierte FIX en activado, al unirse éste al FVIIIa (FIXa + FVIIIa + Ca) cataliza la conversión de FX en FXa, formando el complejo FXa/FVa + Ca, que cataliza la conversión de trombina

suficientes para la formación de fibrina (cascada de trombina) (Figura 3). La trombina activa al FXIII o factor estabilizado de fibrina, responsable de la formación de enlaces covalentes entre las cadenas de fibrina para la formación del coágulo y del inhibidor fibrinolítico (TAFI), que tiene un efecto positivo en la estabilidad del coágulo y una resistencia a la plasmina que limita la lisis. (Espitia, 2015, p.s144)

Fibrinólisis. La fibrina tiene un papel esencial en la hemostasia, como producto primario de la cascada de coagulación y como sustrato último en la fibrinólisis. La eficiencia de la fibrinólisis es altamente influenciada por la estructura del coágulo, las isoformas del fibrinógeno, los polimorfismos, el grado de generación de trombina y el ambiente bioquímico en el que se desarrollan.

(Flores et al., 2014, p.s384)

Una vez formado el coágulo, la fibrinólisis mediada por plasmina es la responsable de removerlo, tanto en etapas tardías del trauma vascular como en trombosis patológica. La trombina y la oclusión vascular inducen al endotelio a producir el activador tisular de la plasmina (t-PA). Otro activador es inducido por los factores de contacto (PK, HMHK y XII), que convierten la prourocinasa en activador del plasminógeno de tipo urocinasa (u-PA). Cuando estos activadores superan los mecanismos inhibidores de activación del plasminógeno (TAFI), antes mencionados, se activa la plasmina, que corta los residuos de lisina y arginina en el extremo carboxilo terminal de la fibrina y revierten la polimerización, con lo que la convierten en productos de degradación de la fibrina, como el dímero D.

(Flores et al., 2014, p.s385)

Pues bien, desde el momento en que se está formando el coágulo en el cuerpo, el sistema fibrinolítico se inicia para romperlo. El efecto final del sistema fibrinolítico es la plasmina, el cual escinde la fibrina en productos solubles de degradación. La plasmina se produce por el precursor inactivo del plasminógeno por la acción de dos activadores: el activador tipo urocinasa de plasminógeno (uPA) y el activador de plasminógeno tipo tisular (tPA). El PAs (activador de plasminógeno) es regulado por el inhibidor del activador de plasminógeno (PAIs). El plasminógeno es encontrado en mucha mayor cantidad en plasma que el PAs. La liberación de tPA de las células endoteliales es provocada por la trombina y la oclusión venosa. El tPA y el plasminógeno se unen para envolver el polímero de fibrina. Una vez que el plasminógeno es activado y se transforma en plasmina se une a la fibrina en un sitio específico en donde existen residuos de lisina y arginina, resultando en la disolución del coágulo.

(Flores et al., 2014, p.s385)

Inhibición de la coagulación. Espitia (2009) afirma: “La principal función de los inhibidores de la coagulación es mantener la coagulación sanguínea bajo condiciones fisiológicas y en control la cascada de coagulación después de un daño vascular” (p.s145).

1. “Proteasas inhibitorias circulantes como la antitrombina, cofactor de heparina II, TFPI (inhibidor del factor tisular) e inhibidor C1, eliminan los factores de la coagulación atacando sus sitios activos de acción” (Espitia, 2009, p.s145).
2. “Vía de la proteína C/ proteína S” (Espitia, 2009, p.s145).
3. “Sistema fibrinolítico” (Espitia, 2009, p.s145).

2.1.3. Pruebas Básicas de Coagulación. La evaluación global de la coagulación sanguínea en el laboratorio se realiza mediante la determinación del TP y del TTPa, los cuales, se complementan con el recuento de plaquetas en sangre periférica, la cuantificación de fibrinógeno y la realización del tiempo de trombina o tiempo de reptilasa. Con los resultados de estas pruebas podremos establecer un diagnóstico presuntivo en la mayoría de los casos.

(Arellano, 2011, p.2)

La correcta interpretación de estas pruebas de coagulación depende de una preparación adecuada del paciente (ayuno), la obtención pertinente de una muestra de sangre anticoagulada con citrato sódico y un transporte (etapa pre analítica), procesamiento y análisis adecuado de la muestra (etapa analítica). Un manejo adecuado de estas fases es imprescindible para obtener resultados fiables y evitar la obtención de nuevas muestras y un diagnóstico incorrecto. El citrato trisódico (0,105 mol/L, 3,2 %) es el anticoagulante estándar para la recolección de muestras en las pruebas de coagulación. Dado que es un quelante del calcio inhibe la coagulación de la muestra tras su extracción. El plasma obtenido tras centrifugación de la muestra de sangre total anticoagulada con citrato sódico se utiliza para realizar las pruebas de coagulación. Tanto el TP como el TTPa son pruebas funcionales in vitro, ya que cuantifican la actividad enzimática coagulativa presente en una muestra, tras la adición de un activador de la coagulación y calcio que conlleva a la subsiguiente formación de un coágulo.

(Arellano, 2011, p.2)

2.1.4. Control de calidad en la pruebas de Coagulación. El control de calidad en el laboratorio es necesario para proporcionar resultados confiables, precisos, veraces y exactos para que de esta manera sean relevantes para el diagnóstico, monitoreo y vigilancia clínica de los pacientes.

Para lograr este objetivo se requiere de una administración experta que supervise el trabajo de laboratorio, que garantice que se logre el nivel necesario de las buenas prácticas de laboratorio y que éste mantenga constantemente, para lo cual es necesario llevar un programa de aseguramiento de calidad. Este programa contempla 3 aspectos: fase preanalítica, analítica y postanalítica (Ochoa, 2006, p.1).

Fase preanalítica. “Es la etapa del estudio que incluye: Solicitud de Laboratorio, indicaciones del paciente, identificación del paciente, sitio de punción, manejo de la muestra y transporte y almacenamiento” (Ochoa, 2006, p.1).

Indicaciones del paciente.- “El paciente debe presentarse a la toma de muestra con un ayuno de cuando menos 4 horas. La última ingesta de alimentos debe de ser baja en grasas, ya que la lipemia produce turbidez que interfiere con los métodos coagulmétricos y nefelométricos” (Ochoa, 2006, p.1).

Tabla 1
Fármacos que afectan las pruebas de laboratorio

Prueba	Medicamento	Efecto
Factores II, V, VII, VIII IX, X, XII	Anticonceptivos orales	Aumentan la actividad
Adhesión y agregación Plaquetaria	Anticonceptivos orales	Aumentan la actividad
Tiempo de protrombina	Anticoagulantes orales Cumarínicos	Interfieren con las enzimas que reducen la vitamina K y limitan el proceso de carboxilación (TP alargado)
TTPa o TT	Heparina no fraccionada	Inhibe al Factor X y II (TTPa alargado)
Plaquetas	Aspirina y antiinflamatorios no esteroides	Antiagregantes. Inhiben a la ciclooxigenasa para la síntesis de tromboxano A ₂ .

Nota. Tomada de Ochoa (2006)

Seleccionar sitio de punción.- Elegir una vena de fácil acceso, como es la vena central, cefálica o radial del antebrazo, evitar áreas de hematomas o de cicatrización extensa.

Se le pide al paciente que cierre el puño y se le frota el brazo de abajo hacia arriba, con objeto de hacer más visibles las venas. Debe evitarse el ejercicio excesivo de la mano porque aumentan los factores de coagulación. La punción debe ser limpia y única y sin exceder del tiempo de ligadura de un minuto; quitar la ligadura tan pronto como la sangre comience a fluir para evitar la estasis local.

(Ochoa, 2006, p.2)

Tabla 2
Alteraciones causadas por estasis venosa prolongada.

Causa	Efecto
Liberación de Factor Tisular	Activación de proteínas procoagulantes y anticoagulantes
Hemólisis	Liberación de fosfolípido activación de factores
Salida de Plaquetas	Activación

Nota. Tomada de Ochoa (2006)

Recolección de la muestra.- En la recolección de la muestra el anticoagulante de elección es el citrato de sodio al 3.8% (0.129 M), en una proporción 9 partes de sangre y 1 de anticoagulante, recomendada por el Comité de Trombosis y Hemostasia. En tubos de plástico o de vidrio siliconado, una vez obtenida la muestra, debe ser mezclada con el anticoagulante mediante movimientos de inversión. Se debe evitar la hemólisis de la muestra, debido a que los eritrocitos liberan factores trombo plásticos al medio, que afectan acortando los tiempos de coagulación.

(Ochoa, 2006, p.3)

Si el paciente tiene hematocrito menor de 30%, no es necesario hacer la corrección de la relación sangre anticoagulante, puesto que el sistema tiene suficiente calcio para evitar la coagulación. Pero cuando el hematocrito es mayor de 60%, los resultados son afectados por el exceso de anticoagulante, ya que puede quelar el calcio que se emplea durante el procedimiento de las pruebas de coagulación, causando prolongación de los tiempos de coagulación.

(Ochoa, 2006, p.2)

Tabla 3
Relación sangre anticoagulante con respecto al hematocrito

Hematocrito %	Volumen de anticoagulante mL	Volumen de sangre mL
60	0.4	4.5
70	0.25	4.75
80	0.2	4.8

Nota. Tomada de Ochoa (2006)

La estabilidad de las pruebas de coagulación es crítica para el diagnóstico y para el mantenimiento de la terapia anticoagulante. También lo es la temperatura de conservación mantenida durante el transporte y almacenamiento de las muestras. Los intervalos de tiempo que se recomiendan entre la obtención de las muestras y la realización de las pruebas son: 2 horas cuando la muestra es mantenida a 22°C – 24°C, 4 horas cuando es almacenada a 4°C, 2 semanas a -20°C y 6 meses a – 70°C. Siempre se conserva el tubo tapado hasta su valoración analítica (incluido el tiempo de la centrifugación), para evitar la pérdida de CO₂ y la elevación del pH.

(Ochoa, 2006, p.3)

Fase analítica. “Es la etapa que considera a las variaciones relacionadas con el procedimiento técnico en sí mismo, que afectan los resultados finales del estudio del paciente. El control de calidad interno se utiliza para determinar si una serie de técnicas y procedimientos se está realizando correctamente, durante un determinado periodo de tiempo. Se emplea para asegurar el buen funcionamiento diario del laboratorio” (Ochoa, 2006, p.4).

Fase postanalítica. “Es la confrontación de todas las fases de análisis y tiene la finalidad de correlacionar los resultados obtenidos con los diagnósticos de los pacientes” (Ochoa, 2006, p.5).

Tiempo de protrombina. “Analiza los factores que intervienen en las vías extrínseca y común. La tromboplastina utilizada, en función de su sensibilidad, influye mucho en los resultados del TP, siendo necesario que cada laboratorio determine sus valores normales con sus técnicas, reactivos y aparatos. El TP es particularmente

sensible a los niveles bajos de VII y está alargado en sujetos con déficit de los factores I, II, V, VII y X, o presencia de un inhibidor contra los mismos.

(Rocha, Panizo, Lecumberri, Pérez, Sánchez y Zarza, 2002, p.9)

Tiempo de tromboplastina parcial activada. Es una prueba que se utiliza para explorar toda la vía intrínseca y la vía final común. El reactivo usado en la determinación del TTPA debe ser suficientemente sensible para detectar niveles reducidos de factores que se asocian con sintomatología hemorrágica. El alargamiento del TTPA denota una disminución de los niveles plasmáticos de uno o más de los factores que intervienen en la vía intrínseca de la coagulación (cininógeno de alto peso molecular, precalicreína, FXII, FXI, FIX y FVIII) y en la vía final común (II, V, X y fibrinógeno), o la presencia de un inhibidor contra los mismos. Una vez se ha confirmado que el TP, el TTPA, o ambos, están prolongados hay que determinar si la causa es un déficit o la presencia de un inhibidor, para lo cual, como comentaremos más extensamente con posterioridad, se debe realizar un estudio de mezclas de plasma del paciente y plasma normal. La corrección del defecto indica la existencia del déficit de un factor, mientras que la ausencia de corrección confirma la presencia de un inhibidor.

(Rocha, et al. 2002, p.9)

Fibrinógeno. El Fibrinógeno es una glucoproteína con peso molecular de 340 kDa. con una estructura de tres cadenas polipeptídicas (alfa, beta y gamma) que se sintetiza principalmente en el hígado y cuya principal función en la coagulación es transformarse por acción de la trombina en fibrina insoluble. Tiene una vida media de 100 horas (3 a 6 días). Es una proteína de fase aguda conocida como factor I que como

expresión de una respuesta inflamatoria puede incrementar 2 a 20 veces su valor normal.

(Canseco, Jerjes, Ortiz, Rojas y Guzmán, 2006, p.159)

“El fibrinógeno (factor I) en presencia de trombina, factor XIII activado de la coagulación e iones calcio, se transforma en una red tridimensional de fibrina estable y elástica que origina la formación del coágulo” (Canseco, et al., 2006, p.159).

Tiempo de trombina. “Cuyo alargamiento permite detectar anomalías cuantitativas o cualitativas del fibrinógeno, presencia de sustancias que impiden la acción de la trombina, como ocurre con la heparina o los PDF, o la existencia de un inhibidor adquirido contra la trombina” (Rocha, et al. 2002, p.10).

La actividad más importante de la trombina es sin duda en la hemostasia, convirtiendo el fibrinógeno en fibrina, esencial para activar a los cofactores V y VIII y activar el factor XIII. Con la iniciación de la coagulación, la trombina activa a las plaquetas, estimula la expresión de receptores celulares en las plaquetas, así mismo, la liberación y agregación plaquetaria. La trombina a su vez regula la coagulación por su unión con la trombomodulina, transformando a la trombina en un anticoagulante y en un antifibrinolítico. Por otro lado, la trombina sirve como mitógeno para las células endoteliales, las células del músculo liso y fibroblastos, estimula la síntesis y secreción de proteínas vasoactivas y hemostáticas de la célula endotelial, provoca la actividad quimiotáctica, incrementa la permeabilidad vascular y promueve la adhesión de neutrófilos a la célula endotelial.

(Martínez, 2003, p.s29)

2.1.5. Valores de Referencia. Un valor de referencia se define como el resultado analítico obtenido en un individuo de referencia. Este individuo es una persona que pertenece a la comunidad a la que sirve el laboratorio en cuestión, y que se caracteriza fundamentalmente por disfrutar de un estado de salud definido por el propio investigador, no un estado de salud “absoluto”. Esta flexibilidad en la definición de individuo de referencia permite establecer valores de referencia utilizando grupos peculiares tanto por su estado fisiológico (mujeres embarazadas, por ejemplo), patológico (insuficiencias renales en tratamiento con diálisis), o historia farmacológica (mujeres tomando anticonceptivos orales), sin menoscabo de los fundamentos teóricos. (CLSI-C28A3, 2008).

Tipos de intervalos de referencia. Existen varios tipos de intervalos de referencia, cuya diferencia reside en sus bases teóricas, ya que en la práctica si se dispone de un número adecuado de datos los valores numéricos que se obtienen al aplicarlos son muy semejantes entre sí. Estos intervalos son:

Intervalo interfractílico. El término fractil indica un valor por encima o por debajo de cual existe una proporción determinada de los datos de la distribución. Una extensión del término fractil es la de percentil, esto es, el fractil referido a 100 datos. Este tipo de intervalo es el más utilizado. Los valores comprendidos entre dos fractiles (generalmente el 2,5 y el 97,5) delimitan el intervalo de referencia. Estos límites se escogen de forma arbitraria y, en ocasiones, pueden ser asimétricos. Por esta razón debe expresarse a partir de qué fractil se ha calculado el intervalo. (CLSI-C28A3, 2008).

Intervalo de tolerancia. “Este intervalo es aquel en que se halla comprendida una proporción específica de los valores de referencia con un grado de confianza determinado. En este caso debe cumplirse la condición de la muestra al azar, ya que

este intervalo de referencia se basa en la certeza de que la muestra es realmente una estimación de la población” (CLSI-C28A3, 2008).

Intervalo de predicción. “Es un intervalo definido por unos límites superior e inferior, entre los cuáles se espera que se halle comprendido un valor de referencia con un grado de confianza determinado. También en este caso debe cumplirse la condición de la obtención aleatoria de la muestra” (CLSI-C28A3, 2008).

Tamaño de la muestra de referencia. Para la estimación de los límites de referencia biológicos se usan distintos métodos estadísticos dependiendo de que la distribución de los valores de referencia biológicos, o de alguna transformación matemática de los mismos, siga la ley de Laplace-Gauss (método paramétrico) o no la siga (método no paramétrico). Cuando se utiliza el método paramétrico, el número de individuos de referencia seleccionados para cada grupo homogéneo, para cada partición, si la hay debe ser de 30 como mínimo, pero si se utiliza el método no paramétrico, 120 es el número mínimo.

(Fuentes, 2011, p.46)

Determinación de valores de referencia. Para la determinación de los valores de referencia hay que cumplir una serie de requisitos tanto en la fase pre analítica como en las fases analíticas y post analítica. El primer paso para la selección de los individuos de referencia es establecer los criterios de exclusión. Estos criterios deberían ser descriptivos y documentados, para que sea factible realizar comparaciones con otros laboratorios. También es sumamente importante y apropiado establecer, mediante criterios de partición, los subgrupos de referencia elegidos.

En la fase analítica, se debe asegurar que el procedimiento y el instrumento analítico sean similares a los utilizados en los estudios clínicos y que todos los procedimientos estén bajo control, monitorizando por un sistema de control de calidad apropiado. En caso contrario los intervalos de referencia obtenidos no tendrán validez. En la fase post analítica, el análisis de los datos se puede hacer de dos formas, dependiendo del tipo de distribución. Si se trata de una población con distribución gaussiana, se puede calcular la media y la desviación típica de los valores para crear el intervalo de confianza del 95 %. Si no se conoce la distribución de los valores o no es gaussiana ni transformable en gaussiana, el método no paramétrico es el más sencillo, el más directo y el adecuado. Se calculan así los percentiles 2,5 y 97,5 como límites de referencia.

(CLSI-C28A3, 2008).

Descripción de la muestra de referencia. La muestra de referencia es un subconjunto de la población de referencia. Los resultados analíticos obtenidos en los elementos de este subconjunto son valores de una variable aleatoria real. En la producción de valores de referencia se obtiene, por tanto, una serie estadística constituida por un conjunto de números reales (CLSI-C28A3, 2008).

Descripción gráfica de una muestra de referencia. Se recomienda representar siempre los valores de referencia antes de proceder a calcular los respectivos intervalos. El histograma es el método gráfico habitual para presentar los datos. Es un gráfico de rectángulos dibujado en un sistema de coordenadas en el que la magnitud medida se representa en abscisas y la frecuencia relativa en ordenadas. El área de cada rectángulo es proporcional al número de observaciones de la correspondiente clase.

(CLSI-C28A3, 2008)

Pruebas de gaussianidad. El desarrollo de intervalos de referencia paramétricos exige que la distribución de referencia sea gaussiana, y en caso contrario deberá optarse por: (a) transformar los datos para obtener una distribución gaussiana; o (b) proceder a calcular intervalos de referencia no paramétricos. Es un hecho constatado que un buen número de distribuciones de variables biológicas se apartan claramente de la distribución de Gauss. Por ello no se recomienda asumir, de entrada, la gaussianidad de la distribución, debiéndose comprobar en cada caso. Para verificar la gaussianidad de una población hay varios tipos de pruebas la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) recomienda dos: los coeficientes de sesgo y curtosis (tests de coeficientes) y el test de Anderson–Darling. (CLSI-C28A3, 2008)

Detección y tratamiento de valores aberrantes. La dispersión que se halla en un intervalo de referencia es la suma de la dispersión debida a: (a) la propia población de referencia, es decir la suma de las variaciones intra e interindividuales; (b) la variación atribuible a los procedimientos analíticos utilizados (error analítico); (c) lo que Ascombe llama error de “ejecución”, por ejemplo, equivocaciones en la selección de la muestra de referencia en la que se hubiera incluido un individuo enfermo, que introduce variaciones “disparatadas”. Cuando un valor de referencia se encuentra especialmente alejado del conjunto constituido por el resto de la muestra de referencia, se le califica de valor aberrante; ya sea porque refleje un error analítico no tolerable, o un error “de ejecución” que lo sitúa en una región de “improbabilidad. (CLSI-C28A3, 2008)

Detección de datos aberrantes. “Se fundamenta en la mayoría de los casos, en la suposición de que la distribución de referencia se ajusta a un modelo determinado.

Habitualmente el gaussiano. Por tanto, la validez de la detección de valores aberrantes dependerá de gran manera de la validez de tal suposición. Existen varios métodos para determinar los datos aberrantes o marginales como el test de Red o el método de percentiles” (CLSI-C28A3, 2008).

Análisis de los valores de referencia. “El intervalo de referencia se define incluyendo dos números uno superior y un límite de referencia inferior que se estima para encerrar un porcentaje específico (normalmente el 95%) de los valores para una población determinada. Para la mayoría de analitos el límite inferior y el límite de referencia superior se asume para demarcar la 2.5° y percentiles 97.5 de la distribución de los intervalos de referencia” (CLSI-C28A3, 2008).

Estadísticamente existen dos métodos para la determinación de dichos límites y son el paramétrico y no paramétrico. El método no paramétrico de estimación no hace ninguna hipótesis específica sobre la forma matemática de la distribución de probabilidad que representan los valores observados. El método paramétrico supone siga una curva de probabilidad gaussiana (normal). Debido a que la mayoría de valores de referencia de muchos analitos no siguen una distribución gaussiana, el uso del método paramétrico requiere ser transformado a una escala de medición para “normalizar” los valores obtenidos. (CLSI-C28A3, 2008).

Calculo paramétrico del intervalo de referencia. Se procede a calcular las estimaciones de la media y la desviación estándar de la forma usual. Se calcula el límite de referencia según la fórmula:

$$l = \bar{x} \pm k s$$

Donde k es el valor de la distribución de Gauss para el nivel de probabilidad fijado (generalmente se toma $\alpha = 0,05$, siendo entonces $\kappa = 1,96$) (CLSI-C28A3, 2008).

Para calcular el intervalo de confianza paramétrico de cada fractil. La siguiente expresión permite calcular el intervalo de confianza al 90% de cada fractil:

$$fractil \pm 2.81 = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

Donde S es la desviación típica de la muestra en cuestión; y n es el número de datos. (CLSI-C28A3, 2008).

Calculo no paramétrico del intervalo de referencia. “Se procede a ordenar los valores de referencia en orden ascendente. Se calculan los fractiles generalmente los percentiles 2,5 y 97,5 correspondiente a los límites de referencia, mediante la expresión: fractil inferior = $0,025(n + 1)$ fractil superior = $0,975(n + 1)$, luego se calcula el intervalo de confianza de cada límite de referencia. Generalmente se calculan Intervalos de confianza al 90% o al 70%” (CLSI-C28A3, 2008).

2.2 Variables:

Variable general: Intervalo de referencia

Variables intervinientes: pruebas de coagulación las cuales son el tiempo protrombina, tiempo de tromboplastina parcial activada, tiempo trombina y fibrinógeno.

2.3 Términos básicos

Factor tisular.- Es un componente integral de la membrana celular, y el principal iniciador de la coagulación in vivo. Se expresa en varios tipos celulares, estando presente en monocitos transitorios y células endoteliales en respuesta a procesos inflamatorios (Paramo et al., 2009).

Población de referencia.- “Un grupo integrado por todos los individuos de referencia” (CLSI-C28A3, 2008).

Valor de referencia.- “El valor (resultado de una prueba) por la observación o medición de una cantidad particular de referencia” (CLSI-C28A3, 2008).

Distribución de referencia.- “Distribución de los valores de referencia” (CLSI-C28A3, 2008).

Intervalo de referencia.- “El intervalo entre, e incluyendo dos límites de referencia” (CLSI-C28A3, 2008).

Límite de referencia.- “Un valor derivado de la distribución de referencia y se utiliza para fines descriptivos” (CLSI-C28A3, 2008).

Persona de referencia.- “Una persona seleccionada para la prueba sobre la base de criterios bien definidos” (CLSI-C28A3, 2008).

CAPITULO III MÉTODO

3.1 Tipo y diseño

Es un estudio no experimental debido a que no se hace variar intencionalmente las variables independientes, de corte transversal porque los datos se recolectan en un solo momento y tiempo único; y descriptivo porque se indaga los valores en que se manifiesta uno o más variables (Hernández, Fernández y Baptista, 2008).

3.2 Población y muestra

Población. Estará conformada por donantes calificados como aptos para la donación de sangre y que den su consentimiento informado para el estudio en el mes de Diciembre 2015 a Febrero 2016.

Muestra. Consiste en el plasma obtenido de 240 donantes del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. Que hayan calificados como aptos en la entrevista en el área de Banco de Sangre en el periodo comprendido de Diciembre del 2015 a Febrero del 2016.

Esta muestra es de tipo no probabilística con el número mínimo de 120 individuos de referencia para obtener los intervalos de referencia, según documento de CLSI-C28A3, 2008.

Criterios de Inclusión

- ✓ Individuos entre 18 años y 55 años.
- ✓ Individuos calificados como aptos en el momento de la entrevista, durante el periodo de estudio, en el servicio de banco de sangre del INEN, como sustento principal de su buen estado de salud.

- ✓ Individuos con pruebas de tamizaje no reactivas.
- ✓ Individuos con pruebas de coagulación dentro de los rangos de referencia.
- ✓ Individuos que manifiesten su voluntad de participar en el estudio mediante la firma del consentimiento informado.

Criterios de Exclusión

- ✓ Mujeres gestantes
- ✓ Individuos con algún tipo de medicación o que estén usando anticoagulantes.
- ✓ Individuos con algún síntoma o alguna patología.
- ✓ Mujeres que consuman anticonceptivos.
- ✓ Individuos que consuman vitaminas
- ✓ Individuos que hayan recibido transfusiones de sangre o derivados.
- ✓ Individuos con muestras de lipemia o ictericia.
- ✓ Individuos que consumas algún tipo de medicación (tabaquismos, alcoholismo o drogas)
- ✓ Individuos con hematocrito mayor de 55%.

3.3 Operacionalización de variables

Variable	Dimensión	Concepto	Indicador	Escala
Intervalos de referencia	Tiempo Protrombina	Es una prueba de screening que mide la actividad de los factores de la vía extrínseca y común de la coagulación.	Intervalo (Tiempo)	9.4 – 12.5 seg.
	Tiempo Tromboplastina Parcial Activada	Es un test de screening general que mide la actividad de los factores de la vía intrínseca y común de la coagulación.	Intervalo (Tiempo)	25.4 -36.9 seg.
	Tiempo Trombina	Es un test para la evaluación de la cantidad y calidad de la fibrina.	Intervalo (Tiempo)	15.8 – 24.9 seg.
	Fibrinógeno	Es un test cuantitativo que mide la función del fibrinógeno.	Intervalo (Concentración)	200 – 393 mg/dl

3.4 Instrumento de recolección de datos

Los instrumentos que se requieren son el equipo ACL -TOP500, una centrifuga refrigerada, pipetas automáticas y los reactivos HemosIL. Para proceder a la recolección de muestras de los donantes de sangre se enviara una solicitud al Medico Jefe del Área de Banco de Sangre del INEN quien deberá autorizar la realización del presente proyecto de investigación y quien a la vez deberá tener amplio conocimiento de la metodología a seguir.

Luego se procederá a recolectar las muestras de los donantes, para lo cual se les entregara el consentimiento informado y el cuestionario en donde se les explicara todo respecto al proyecto y el procedimiento que se realizara.

Obtención de la muestra de sangre. Las muestras de sangre serán obtenidas por punción venosa con el brazo a 45° grados del plano horizontal, se recolectara en tubos al vacío de citrato de sodio al 3,2% luego serán centrifugadas a 3800rpm por 10 minutos a 4°C.

Procesamiento de la muestra. Para el procesamiento de las muestras en el equipo se requiere la aceptación de los controles internos e interlaboratoriales del equipo ACL-TOP500.

Luego de la centrifugación se obtendrá en la muestra el plasma citratado el cual se introducirá al el equipo analizador ACL-TOP500 cuyo principio operativo es la realización de mediciones coagulometricas (turbidimetricas). Esta técnica evalúa el punto final de la coagulación mediante la medición del cambio en la densidad óptica

Materiales y Equipos. Equipos utilizados fueron: ACL -TOP500, Centrifuga Refrigerada, Pipetas automáticas, y los materiales los siguientes: tubos *BD*

VACUTAINER de 10x64 mm con Citrato de Sodio al 3.2%, agujas 21Gx1” BD
VACUTAINER, guantes de Nitrilo, ligadura, algodón, alcohol 70%, esparadrapo,
plumón indeleble, Reactivos: APTT-SP, CaCl₂, Factor diluent –HemosIL, PT
Recombiplastin, Buffer concentrado, *Bovine Thrombin*, Agua bidestilada, *Clean B*,
Controles: 04 normal para el TP, TTPa, TT, QFA y 04 patológicos para el TP, TTPa,
TT y QFA, lapiceros y Hojas Bond.

3.5 Análisis de datos.

Los datos se procesaran con apoyo de los instrumentos y procedimiento estadísticos según las recomendaciones de la CLSI-C28A3, 2008. Los datos obtenidos se ingresaron y procesaron en el software *Reference Value Advisor* y *Medcalc*.

Para la detección de outliers se realizaron las pruebas Tukey, Reed y los gráficos box-plots; procediéndose luego a la interpretación y análisis. Para normalidad de la distribución de los datos se utilizaron los coeficientes de asimetría y curtosis, las pruebas de *p-value Anderson-Darling* y *D’Agostino-Pearson*, asimismo se evaluó con los gráficos Q-Q plots. El análisis estadístico en la parte descriptiva incluyó el cálculo de la media, desviación estándar, valores máximos y mínimos para las variables de estudio. Finalmente se obtuvieron los intervalos de referencia utilizando métodos paramétricos y no paramétricos para las variables en estudio.

RESULTADOS

Se obtuvo una población de estudio de 240 donantes de los cuales 120 fueron mujeres que corresponden a 50% y 120 fueron hombres que corresponde a 50%; en edades comprendidas entre 18 a 55 años como indica la tabla N° 4.

Tabla 4

Características de la población de referencia

VARIABLE	%
Hombres	50
Sexo	
Mujeres	50

4.1 Análisis de datos en la población general

Determinación de valores atípicos

Para identificar valores atípico en la población de referencia se procedió a utilizar los gráficos Box-Plots y los métodos de Tukey y Red, en los cuales no se obtuvieron valores atípicos. En la figura N° 1, se representan los gráficos Box-Plots en la población general para los parámetros hemostáticos; en la cual no presentan valores extremos según la representación de cuartiles.

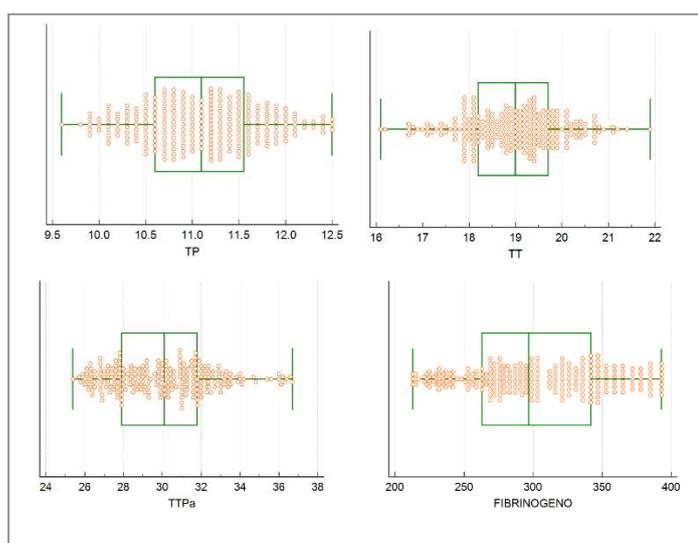


Figura 1 Gráficos Box-Plots de los parámetros hemostáticos.

Elaboración del histograma y comprobación de la normalidad de los datos

Luego de determinar los valores atípico se procedió a determinar la distribución simétrica de los datos mediante el histograma y los gráficos Q-Q plots.

En la figura N° 2, en la variable del tiempo de protrombina siguen aparentemente una distribución normal.

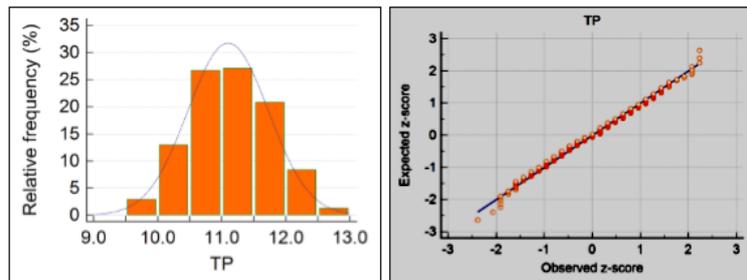


Figura 2: Histograma y Gráfico Q-Q plots del Tiempo Protrombina

En la figura N° 3, en la variable del tiempo de trombina siguen aparentemente una distribución normal.

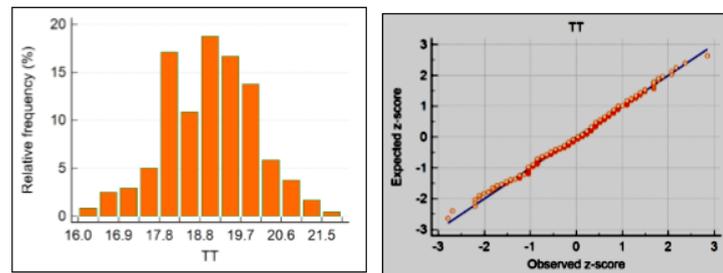


Figura 3: Histograma y Gráfico Q-Q plots del Tiempo Trombina

En la figura N° 4, en la variable del tiempo de protrombina parcial activada siguen una distribución asimétrica.

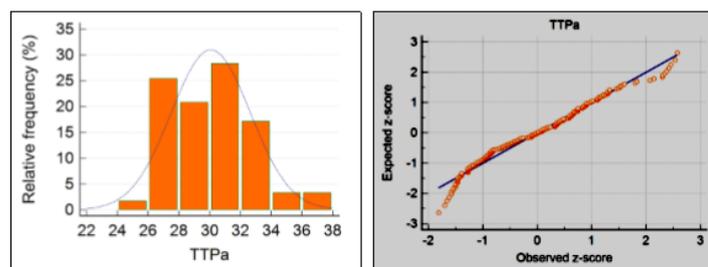


Figura 4: Histograma y Gráfico Q-Q plots del TTPa

En la figura N° 5, en la variable del fibrinógeno siguen una distribución asimétrica; ya que los datos se encuentran inclinándose hacia la izquierda.

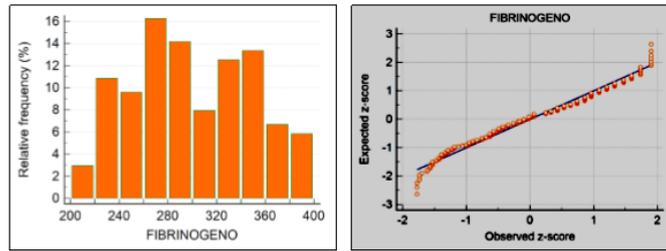


Figura 5: Histograma y Grafico Q-Q plots del Fibrinógeno

Luego se utilizaron las pruebas de Anderson-Darling por ser esta más sensible para pruebas de normalidad, el test de D'Agostino Pearson que me permite aceptar o rechazar la normalidad utilizando los coeficientes de asimetría y curtosis, y el test de Kolmogorov-Smirnov para evaluar la distribución de una población. Los resultados se detallan en la tabla N° 5.

Tabla 5

Distribución de los parámetros hemostáticos en la población general

PARAMETRO	COEFICIENTE SKEWNESS	COEFICIENTE CURTOSIS	P-Value Anderson-Darling/symmetrt est for robust	Kolmogorov-Smirnov test p-value	D'Agostino-Pearson test for Normal distribution
TP	0.7148	0.0097	0.134*	0.09*	0.0331
TTPA	0.0345	0.0762	0.001	0	0.0222
TT	0.345	0.0762	0.296*	1*	0.7390*
FIBRINOGENO	0.1021	-0.9706	0	0.02	<0.0001

Nota. * $p > 0.05$ Distribución normal; $p < 0.05$ Distribución no normal

Según la tabla N° 5, para el tiempo de protrombina y tiempo de trombina el nivel de significación de los datos es mayor al 5%, por lo que se acepta la hipótesis, es decir los datos siguen un distribución normal. A diferencia de las variables del tiempo de trombolastina parcial activada y fibrinógeno el cual el nivel de significancia es menor al 5%, por lo que se rechaza la hipótesis nula, es decir los datos no siguen una distribución normal.

Determinación del intervalo de referencia

Para la determinación del intervalo de referencia se procedió a realizar la estadística descriptiva de los datos. En la tabla N° 6 se muestra el valor mínimo y máximo de las determinaciones de cada parámetro a evaluar así como la media y desviación estándar.

Tabla 6

Estadística descriptiva de los parámetros hemostáticos en la población general.

PARAMETRO	N	VALOR MINIMO	VALOR MAXIMO	MEDIA	DESVIACIÓN ESTANDAR
T. P	240	9.6	12.5	11.10	0.63
TTPa	240	25.4	36.7	30.09	2.60
T.T	240	16.1	21.9	18.97	1.03
FIBRINOGENO	240	213.0	393.0	300	48.9

Por último, habiendo ya determinado la estadística descriptiva de cada variable se procedió a ingresar los datos a una base del programa estadístico *Reference Value Advisor v2.0.* para el cálculo de los intervalos de referencia según los criterios de la CLSI-C28-A3, los cuales se muestran a continuación en la tabla N° 7.

Tabla 7

Intervalos de Referencia Hemostáticos en la población general.

Parámetro	N	Intervalo Referencia	IC Inferior	IC Superior
TP	240	9.88 - 12.36*	9.77	12.24
TTPa	240	26.00 - 36.10**	25.70	35.40
TT	240	16.94 - 21.00*	16.77	17.11
FIBRINOGENO	240	215.1 - 393.0**	213.0	385.0

Nota. * Intervalo de referencia paramétrico; ** Intervalo de referencia no paramétrico (P2.5 – P97.5); ^α Intervalo de confianza al 90% para el límite inferior; ^β Intervalo de confianza al 90% para el límite superior.

4.2 Análisis de datos según el género

4.2.1. Tiempo Protrombina

En la figura N° 6, se muestra que los datos están cerca de la línea recta la cual representa la normalidad. Para ambas variables según los gráficos Box-Plots muestran una probable distribución normal.

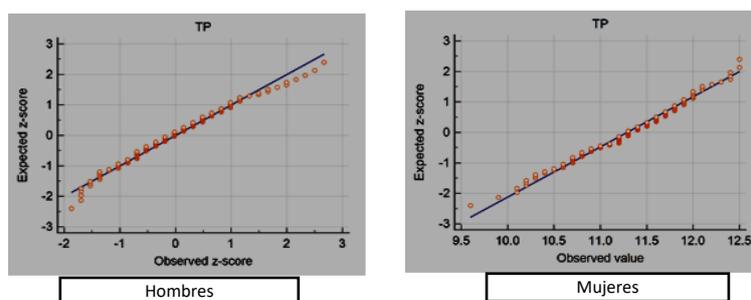


Figura 6. Grafico Q-Q plots del Tiempo Protrombina según el sexo.

En la tabla N° 8, se muestra el análisis de los datos estadísticos para identificar el tipo de distribución que representa la variable en estudio.

Tabla 8

Distribución del Tiempo Protrombina según el sexo.

PARAMETRO		COEFICIENTE SKEWNESS	COEFICIENTE CURTOSIS	P-Value Anderson-Darling/symmetrt est for robust	Kolmogorov-Smirnov test p-value	D'Agostino-Pearson test for Normal distribution
TP	M	0.0778	0.7643	0.234*	1*	0.202*
	F	0.2036	0.4463	0.197*	0.0333	0.3334*

Nota. * $p > 0.05$ Distribución normal; $p < 0.05$ Distribución no normal

Al verificar los gráficos, coeficientes de asimetría y las diferentes pruebas de gaussianidad, se determinó que la variable en estudio presenta una distribución normal.

Por último, habiendo ya determinado el tipo de distribución de cada variable se procedió a ingresar los datos a una base del programa estadístico *Reference Value Advisor v2.0*. para el cálculo de los intervalos de referencia según los criterios de la CLSI-C28-A3, los cuales se muestran a continuación en las tablas 9 y 10 respectivamente.

Tabla 9
Intervalo de Referencia Hemostático según el sexo.

	N	Valor mínimo	Valor máximo	Mediana	Desviación estándar	Intervalo Referencial	IC Inferior	IC Superior
Hombres	120	9.8	12,5	10.91	0.60	9.73 – 12.10*	9.59	11.94
Mujeres	120	9.6	12,5	11.29	0.61	10.08 – 12.49*	9.94	12.34

Nota. * Intervalo de referencia paramétrico; ** Intervalo de referencia no paramétrico (P2.5 – P97.5); ^α Intervalo de confianza al 90% para el límite inferior; ^β Intervalo de confianza al 90% para el límite superior.

Tabla 10
Diferencias significativas según el género

Parámetro	Sexo	Intervalo de referencia	Valor p de t-student Man Whitney
TP	Hombres	9.73 – 12.10*	< 0.0001 ^γ
	Mujeres	10.08 – 12.49*	

Nota. ^γ p< 0.05; diferencia significativa, t-Student

4.2.1 Tiempo tromboplastina parcial activada

En la figura N° 7, se observa que los datos se dispersan de la línea recta de la normalidad; lo cual probablemente no sea una distribución normal.

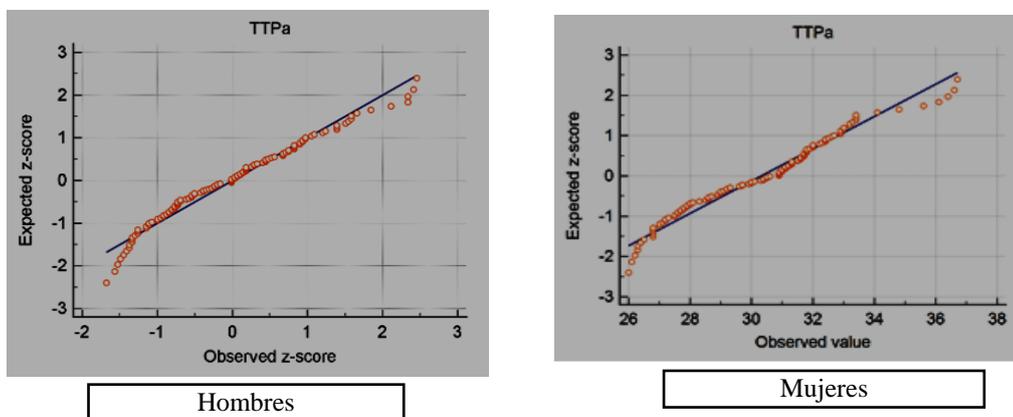


Figura 7: Grafico Q-Q plots del TTPa

En la tabla N° 11, se muestra el análisis de los datos estadísticos para identificar el tipo de distribución que representa la variable en estudio.

Tabla 11

Distribución del Tiempo tromboplastina parcial activada según el sexo.

PARAMETRO		COEFICIENTE SKEWNESS	COEFICIENTE CURTOSIS	P-Value Anderson-Darling/symetrte st for robust	Kolmogorov-Smirnov test p-value	D'Agostino-Pearson test for Normal distribution
TTPA	M	0.0444	0.2342	0.025	0.0515*	0.0654*
	F	0.2507	0.4318	0.011	0.0139	0.3796*

Nota. * $p > 0.05$ Distribución normal; $p < 0.05$ Distribución no normal

Al verificar los gráficos, coeficientes de asimetría y las diferentes pruebas de gaussianidad, se determinó que en los hombres se obtuvo una distribución paramétrica a diferencia del grupo de mujeres el cual presenta una distribución no paramétrica.

Para la determinación del intervalo de referencia se ingresaron los datos a un software, el cual los resultados se muestran en las tablas 12 y 13 respectivamente.

Tabla 12
Intervalo de Referencia Hemostáticos según el sexo.

Parámetro	Sexo	Valor mínimo	Valor máximo	Media	Desviación estándar	Intervalo de referencia	IC inferior ^α	IC superior ^β
TTPA	Masculino	25.4	36.3	29.83	2.64	25.80 -36.00*	25.40	34.20
	Femenino	26.0	36.7	30.32	2.50	26.20-36.39**	26.00	34.10

Nota. * Intervalo de referencia paramétrico; ** Intervalo de referencia no paramétrico (P2.5 – P97.5); ^α Intervalo de confianza al 90% para el límite inferior; ^β Intervalo de confianza al 90% para el límite superior.

Tabla 13
Diferencias significativas según el sexo.

Parámetro	Sexo	Intervalo de referencia	Valor p de t-student Man Whitney
TTPA	Masculino	25.80 -36.00	1.000*
	Femenino	26.20- 36.39	

Nota. * $p < 0.05$; diferencia significativa, t-Student

4.1.3 Tiempo Trombina

En la figura N° 8 se muestra que los datos obtenidos están cerca de la línea recta de normalidad. Probablemente ambas variables presenten una distribución normal.

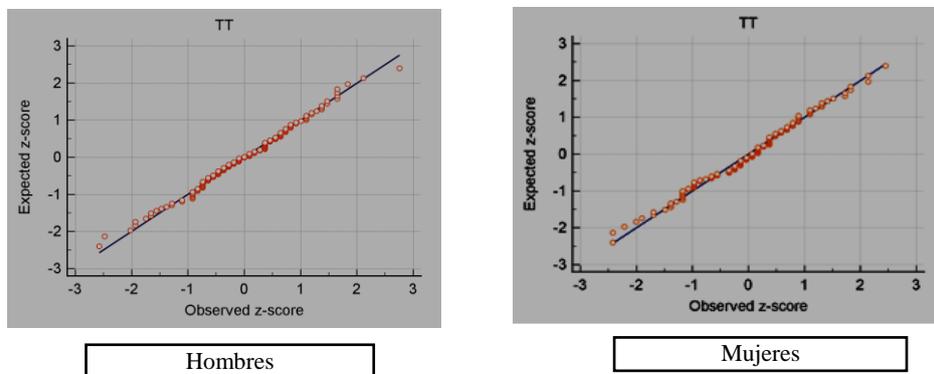


Figura 8: Grafico Q-Q plots del Tiempo trombina

En la tabla N° 14, se muestra las pruebas de gaussianidad utilizadas para identificar el tipo de distribución que representa las variables en estudio.

Tabla 14

Distribución del parámetros hemostático según el sexo.

PARAMETRO		COEFICIENTE SKEWNESS	COEFICIENTE CURTOSIS	P-Value Anderson-Darling/symetrtest for robust	Kolmogorov-Smirnov test p-value	D'Agostino-Pearson test for Normal distribution
TT	M	0.7204	0.9916	0.79*	1*	0.9379*
	F	0.5685	0.8427	0.252*	1*	0.8333*

Nota. * $p > 0.05$ Distribución normal; $p < 0.05$ Distribución no normal

Según los tres métodos empleados (P-Value Anderson-Darling/symetrtest for robust, Kolmogorov-Smirnov test p-value y D'Agostino-Pearson) se observa una distribución normal para la variable del tiempo de trombina según el sexo.

Para obtener el intervalo de referencia se procedió a ingresar los datos a un software, los resultados se muestran en las tablas 15 y 16 respectivamente.

Tabla 15

Intervalo de referencia hemostático según el sexo.

Parámetro	Sexo	Valor mínimo	Valor máximo	Media	Desviación estándar	Intervalo de referencia	IC inferior ^a	IC superior ^b
TT	Masculino	16.1	21.9	18.97	1.03	16.74 – 21.07*	16.48	20.79
	Femenino	16.7	21.4	19.04	0.97	17.12 – 20.96*	16.89	20.71

Nota. * Intervalo de referencia paramétrico; ** Intervalo de referencia no paramétrico (P2.5 – P97.5); ^a Intervalo de confianza al 90% para el límite inferior; ^b Intervalo de confianza al 90% para el límite superior.

Tabla 16

Diferencia significativa según el género.

Parámetro	Sexo	Intervalo de referencia	Valor p de t-student Man Whitney
TT	Masculino	16.74 – 21.07*	0.3404
	Femenino	17.12 – 20.96*	

Nota. * $p < 0.05$; diferencia significativa, t-Student

En la tabla N° 16, mediante el valor p de t-student se determinó que no hay diferencia significativa para la variable del tiempo de trombina según el sexo.

4.1.4. Fibrinógeno

En la figura N° 9, se observa una dispersión de los datos alrededor de la línea recta de normalidad lo cual nos da la probabilidad que ambas variables presentan una distribución no normal.

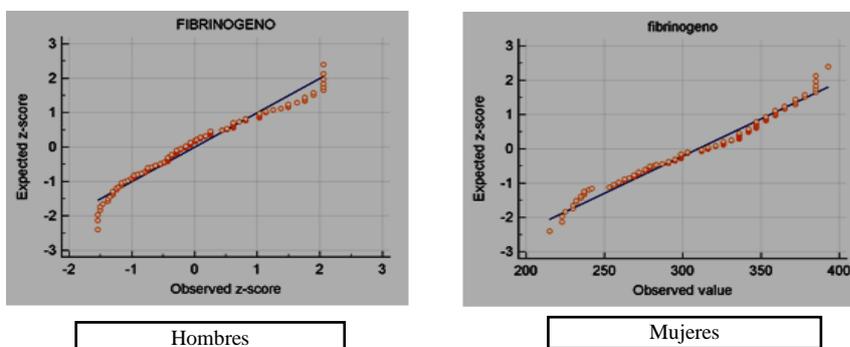


Figura 9. Gráficos Q-Q plots del Fibrinógeno según el sexo

En la tabla N° 17, se muestra el análisis de los datos estadísticos para identificar el tipo de distribución que representa la variable en estudio.

Tabla 17

Distribución del Fibrinógeno según el sexo.

PARAMETRO	COEFICIENTE SKEWNESS	COEFICIENTE CURTOSIS	P-Value Anderson-Darling/symetrtres t for robust	Kolmogorov-Smirnov test p-value	D'Agostino-Pearson test for Normal distribution
M	0.0378	0.058	0	0.0361	0.0192
F	0.2892	0.0001	0.01	0.0018	0.0004

Nota. * $p > 0.05$ Distribución normal; $p < 0.05$ Distribución no normal

En el análisis de los datos se muestra una distribución no paramétrica. Para lo cual se determinó el intervalo por el método de percentiles.

Para obtener el intervalo de referencia se procedió a ingresar los datos a un software, los resultados se muestran en las tablas 18 y 19 respectivamente.

Tabla 18
Intervalo de referencia hemostático según el sexo.

Parámetro	Sexo	Valor mínimo	Valor máximo	Media	Desviación estándar	Intervalo de referencia	IC inferior ^a	IC superior ^b
Fibrinógeno	Masculino	213.0	393.3	283	50.0	213.1 – 392.0**	213.0	385.0
	Femenino	215.0	393.0	309.3	46.1	223.1 – 385.0**	215.0	378.0

Nota. * Intervalo de referencia paramétrico; ** Intervalo de referencia no paramétrico (P2.5 – P97.5); ^a Intervalo de confianza al 90% para el límite inferior; ^b Intervalo de confianza al 90% para el límite superior.

Tabla 19
Diferencia significativa según el sexo.

Parámetro	Sexo	Intervalo de referencia	Valor p de t-student Man Whitney
Fibrinógeno	Masculino	213.1 – 393.0	0.0011*
	Femenino	223.1 – 385.0	

Nota. * $p < 0.05$; diferencia significativa, t-Student

En la tabla N° 19, se determinó mediante el valor p de t-student Man Whitney que existe una diferencia significativa según el género para la variable del Fibrinógeno.

4.2 Comparación de los intervalos de referencia obtenidos frente a los intervalos de referencia nacional e internacional

Tabla 20

Intervalos de referencia obtenidos frente a otros estudios.

Intervalos de referencia obtenidos frente a otros estudios						
Parámetro	Intervalo referencia obtenido	INEN (ACL-TOP) (U.S.A)	Urquiza. R.R (Perú)	Díaz P.P (México)	Hernández J.J. (México)	Calzada C.A. (México)
TP	9.88 - 12.36	9.5 – 12.5	12.3 – 14.5	9.9 – 12.4	11 – 15	12.5 – 13.7
TTPA	26.00 -36.10	25.4 – 36.9	32.24 – 45.0	23.8 – 39.9	26 - 38	30.0 – 33.0
TT	16.94 - 21.00	15.8 – 24.9	14.7 – 17.35	15.7 – 21.5	-	17.7 – 20.0
Fibrinógeno	215.1 - 393.0	200 - 393	269 - 482	140 - 566	232 - 514	-

Los valores de referencia de la población en estudio no son similares a los registrados en la literatura. En comparación a los valores propuestos por la casa comercial no se obtuvieron diferencias significativas para las pruebas de tiempo de tromboplastina parcial activada y tiempo de protrombina. A diferencia del tiempo de trombina y la concentración de fibrinógeno en el cual el intervalo obtenido es diferente al propuesto por la casa comercial.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo para la determinación de intervalos de referencia hay que tener en cuenta las condiciones pre-analíticas y condiciones del laboratorio ya que estos aspectos son importantes para poder establecer intervalos de referencia en nuestra población; teniendo en cuenta que los intervalos propuestos por las casas comerciales son realizados en diferentes condiciones a la realidad del laboratorio clínico.

El haber determinado intervalos de referencia para las pruebas de coagulación propios en nuestra población nos permitió demostrar que para las variables del tiempo trombina y fibrinógeno son diferentes a los propuestos por la casa comercial; lo que nos plantea que en estas variables hay mayor variabilidad biológica e interindividual.

Según los valores de referencia obtenidos para fibrinógeno en los estudios de Urquiza y Calzada respectivamente se observó que los resultados difieren con el obtenido en el presente trabajo; esto debido que la concentración de fibrinógeno posee una gran variabilidad biológica (sexo, edad, índice de masa corporal, actividad física, etc.) lo que explica los diferentes intervalos de referencia obtenidos.

Díaz, (2014) en su estudio determino el intervalo de referencia de tiempo de protrombina de 9.9 – 12.4 seg. el cual coincide con el obtenido en el presente estudio teniendo en cuenta que el tamaño de la muestra y la población de estudio fue diferente.

Urquiza, (2013) en su tesis estableció valores de referencia para las pruebas de coagulación en la población peruana teniendo como muestra donantes sanos; estos valores que se obtuvieron difieren de los obtenidos en el presente estudio, teniendo en cuenta que las metodologías por las cuales se obtuvieron los resultados fueron diferentes; lo que nos lleva a plantear la necesidad de que al interpretar un valor de referencia se tenga en cuenta

las metodologías empleadas; debido que cada prueba tiene un desempeño diferente.

Asimismo Urquiza planteo que no existen diferencias significativas en el sexo para la variable del tiempo de protrombina, lo cual en presente estudio se determinó que si existe diferencias significativas entre ambos grupos.

Con respecto a la diferencia de los parámetros hemostáticos según el sexo, se obtuvo que para las variables tiempo trombina y fibrinógeno existe diferencias significativas lo cual lleva a que al validar un resultado se tenga en cuenta que el sexo es un factor determinante en estas pruebas.

Lo más importante de este trabajo es la determinación que los intervalos de referencia para los parámetros del tiempo trombina y fibrinógeno difieren de los establecidos por la casa comercial y que existen diferencias según el género lo que lleva a considerar que al interpretar un resultado en el laboratorio de hemostasia se tenga en cuenta esta variable; para así poder brindar un resultado confiable.

En la actualidad no se tienen muchos estudios sobre intervalos de referencia en parámetros hemostáticos según el sexo; por lo cual el presente estudio sirve como inicio para futuros estudios al respecto.

Se concluye que los intervalos de referencia para el fibrinógeno difieren con los reportados en otros estudios.

CONCLUSIONES

- En el presente estudio se determinó el intervalo de referencia para la población total en estudio para las siguientes variables: tiempo protrombina (9.88 – 12.36 seg.); tiempo trombolastina parcial activada (26.0 – 36.1 seg.), tiempo trombina (16.94 – 21.0 seg.) y fibrinógeno (215.1 – 393.0 mg/dl).

- Se obtuvieron los intervalos de referencia según el género la cual se indica a continuación:

Mujeres: tiempo protrombina (10.08 - 12.49 seg.), tiempo trombolastina parcial activada (26.2 - 36.3 seg.), tiempo trombina (17.12 – 20.96 seg.) y fibrinógeno (223 - 385.0 mg/dl)

Hombres: tiempo protrombina (9.73 - 12.10 seg.), tiempo trombolastina parcial activada (25.8 – 36.0 seg.), tiempo trombina (16.74 - 21.07 seg.) y fibrinógeno (213.1 –393.0 mg/dl).

- Los intervalos de referencia propuestos por la casa comercial, son diferentes a la población donde se aplica, por ende queda demostrado mediante el estudio la importancia de que cada laboratorio e institución realice sus propios intervalos de referencia en su población y en condiciones de su laboratorio.

- En el proyecto se obtuvieron los intervalos de referencia para los parámetros hemostáticos en una población de donantes de los cuales se determinó una diferencia significativa en los intervalos del tiempo de trombina y la concentración de fibrinógeno respecto a los propuestos por la casa comercial.

- El sexo es un factor de variabilidad en los parámetros hemostáticos que puede determinar diferencias significativas en la mayoría de ellos, lo cual se ha podido demostrar que los valores de referencia son diferentes en mujeres y hombres. En el estudio se realizó los intervalos de referencia según el género, se pudo demostrar que existen diferencias en el tiempo de protrombina, tiempo tromboplastina parcial activada y la concentración de fibrinógeno.

RECOMENDACIONES

- Es recomendable que los laboratorios establezcan sus propios intervalos de referencia antes de utilizar los reportados por las casas comerciales.
- Se recomienda hacer uso de los intervalos de referencia establecidos en este estudio en lugar de los actualmente usados por el INEN; debido que son los más apropiados por realizarse en su población y con las condiciones de su laboratorio.
- Se recomienda hacer estudios para determinar diferencias significativas en el fibrinógeno y así demostrar la importancia de establecer valores de referencia según el género para este parámetro.

CAPITULO V

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arellano, R.E. (2011) Interpretación práctica de la prolongación del tiempo de protrombina y del tiempo de tromboplastina parcial activada. *Educación continua en el laboratorio clínico*, 15, 1 – 10.
- Calzada, C. A.; Moreno, H. M.; Castillo, T.N.; Souto, R. G.; .Hernández, J.J.; Ricardo, M. M.; Sánchez, F. M.; García, G.A. & Maijlu, C. A. (2012) Valores de referencia para pruebas de coagulación en México. Utilidad de la mezcla de plasma de donadores de sangre. *Investigación clínica*, 64, 237 -443.
- Canseco, A. L.; Jerjes S. C.; Ortiz, L. R.; Rojas M. A. & Guzmán, R. D. (2006) Fibrinógeno. ¿Factor o indicador de riesgo cardiovascular?, *Archivos de Cardiología de México*, 76, 158 -172.
- Clinical and Laboratory Standards Institute, (2008) Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory, Aproved Guideline. CLSI documento C28-A3.
- Díaz, P. P.; Juárez B. J. y Lule B. F. (2014) Determinación de intervalos de referencia para las pruebas básicas de coagulación en población mexicana. *Latinoamericana Patología Clínica Medicina de Laboratorio*, 61, 115 – 117
- Espitia, H. P. (2015) Actualidades en coagulación. *Mexicana de Anestesiología*, 38, 143-146.

- Flores, R.O.; Ramírez, M. K.; Meza, M. J. y Nava, L. J. (2014) Fisiología de la Coagulación. *Mexicana de Anestesiología*, 37, 382-386.
- Fuentes, A.X. (2011) Intervalos de referencia biológicos. *Noticonaquic*, 54, 46-51.
- Gonzales, F. L. y Lauria, M. (2014) Determinación de los valores de referencia para pruebas de coagulación en una población pediátrica. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 48, 237 -241.
- Hernández, J. J.; Moreno, H. M.; Ricardo, M. T.; García, G.A.; García, L. E.; Hernández, L.J.; Ramírez, S. E.; Alvarado, M. A.; Isordia, S. I. y Maijlu, C. A (2014) Valores de referencia para la actividad de los factores hemostáticos en la población mexicana. *Investigación Clínica*, 66, 252 -260.
- Hernández, J. (2009). *Valores de referencia de la actividad de los factores de la fase fluida de la hemostasia en la población mexicana indígena y mestiza. (Tesis de maestría)*. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México.
- Hernández, S. R.; Fernández, C. C. y Baptista, L.P., (2006), *Metodología de la investigación*, México DF, México: McGraw Hill Interamericana Editores, SA.
- Martínez, M. C. (2003) Actualización en Hemostasia y Trombosis, *Gaceta Medica de México*, 139, N°2.
- Ochoa, R. M. (2006) Control de Calidad en el Laboratorio de Hemostasia. *Hematología*, 7, N° 1.

Paramo, J. A.; Panizo, E.; Pegenaute, C. y Lecumberri, R. (2009). Coagulación 2009: Una visión moderna de la hemostasia. *Medica Universidad de Navarra*, 53, 19-23

Rocha, H. E.; Feliú, S. J.; Sánchez, A. M. y Lecumberri, V. R. (2004) Indicaciones y valoración clínica de las pruebas analíticas de hemostasia. *Medicine*, 9(22), 1442 - 1445.

Rocha, E., Panizo, C., Lecumberri, R., Pérez Salazar, M., Sánchez Antón, P., & Zarza, J. (2002). Orientación diagnóstica ante una diátesis hemorrágica. *Hematológica. (Ed. Esp)*, 87(1), 16-27.

Urquiza, R., (2013). *Intervalos de referencia en adultos sanos para las pruebas de tiempo de protrombina, tiempo de tromboplastina parcial activada, tiempo de trombina y fibrinógeno en el analizador STAT COMPACT (STAGO) (tesis de pregrado)*.

Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú.

ANEXOS

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Mediante el presente documento se me invita a participar del proyecto de investigación titulado **“INTERVALOS DE REFERENCIA EN PRUEBAS DE COAGULACIÓN EN DONANTES SANOS DEL INEN – LIMA 2016”** el cual se realizara en el Laboratorio de Hematología General del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas.

Para lo cual se le pide llenar lo siguiente:

“Yo _____ con _____ años de edad, identificado con DNI. _____ y en mi calidad de donante autorizo que se me extraiga una muestra equivalente a 3ml de sangre en el momento de la entrevista; de la muestra que se le extraiga se realizaran pruebas de coagulación de la cual se obtendrán los resultados para el proyecto de investigación, teniendo en cuenta que he sido informado que no existen riesgos para mi persona y que mi participación es voluntaria, he sido informado además que se guardara estricta confidencialidad respecto a mi identidad en el estudio y por la cual tampoco recibiré retribución económica”.

Al firmar este documento reconozco que lo he leído y me han explicado y comprendo perfectamente su contenido. Comprendiendo doy mi consentimiento para la realización del procedimiento y firmo a continuación.

Firma del participante

CUESTIONARIO

II. PROTOCOLO DE SELECCIÓN AL DONANTE DE SANGRE:			
1. ¿Ha donado sangre alguna vez?		SI <input type="radio"/>	NO <input checked="" type="radio"/>
2. ¿Donó sangre en los últimos tres meses?		SI <input type="radio"/>	NO <input checked="" type="radio"/>
3. ¿Se puso nervioso cuando donó sangre?		SI <input type="radio"/>	NO <input checked="" type="radio"/>
4. ¿Cuándo fue la última regla?		<i>.....</i>	
5. ¿Cuántos días menstrúa?		<i>6 - 7</i>	
6. En su menstruación, el sangrado es:			
7. ¿Está gestando?		SI <input type="radio"/>	NO <input checked="" type="radio"/>
8. Fecha de último parto:		<i>.....</i>	
9. ¿Está dando de lactar?		SI <input type="radio"/>	NO <input checked="" type="radio"/>
10. ¿Ha sido operado en los últimos seis meses?		SI <input type="radio"/>	NO <input checked="" type="radio"/>
11. ¿De qué fue operado?			
12. ¿Ha recibido sangre, trasplante de órgano o tejidos?		SI <input type="radio"/>	NO <input checked="" type="radio"/>
		Fec Trasplante:	<i>.....</i>
13. ¿Ha sido tatuado, se ha sometido a punción de piel para aretes, adornos, acupuntura o ha usado drogas ilegales?		SI <input type="radio"/>	NO <input checked="" type="radio"/>
14. ¿Qué medicina está tomando actualmente?		SI <input type="radio"/>	NO <input checked="" type="radio"/>
Nombre Medicina: <i>.....</i>			
¿Por qué? <i>.....</i>			
15. ¿Ha tenido o tiene alguna (s) de estas enfermedades o molestias?		SI <input type="radio"/>	NO <input checked="" type="radio"/>
Hepatitis <input type="checkbox"/>	Chagas (Rp) <input type="checkbox"/>	Cáncer (Rp) <input type="checkbox"/>	Dengue (1a) <input checked="" type="checkbox"/>
Tuberculosis (5a) <input type="checkbox"/>	Bartonelosis <input type="checkbox"/>	Diabetes (Rp) <input checked="" type="checkbox"/>	Fiebre Amarilla (1a) <input checked="" type="checkbox"/>
Fiebre tifoidea (2a) <input type="checkbox"/>	Cardiopatías (Rp) <input type="checkbox"/>	Asma <input checked="" type="checkbox"/>	Amebiasis (1a) <input type="checkbox"/>
Fiebre Malta (3a) <input type="checkbox"/>	Hipertensión Arterial <input type="checkbox"/>	Fiebre Reumática (Rp) <input type="checkbox"/>	Mononucleosis <input checked="" type="checkbox"/>
Enfermedades Venereas (3a) <input type="checkbox"/>	Convulsiones (Rp) <input type="checkbox"/>	Hipertiroidismo <input checked="" type="checkbox"/>	Osteomielitis (5a) <input checked="" type="checkbox"/>
paludismo <input type="checkbox"/>	Hemorragias <input type="checkbox"/>	Trastornos Coagulación <input checked="" type="checkbox"/>	Glomerulonefritis <input checked="" type="checkbox"/>
16. ¿Ha tenido contacto directo con personas que tengan hepatitis o ictericia?		SI <input type="radio"/>	NO <input checked="" type="radio"/>
17. ¿Ha viajado a zona endémica de paludismo?		SI <input type="radio"/>	NO <input checked="" type="radio"/>
18. ¿Consuma usted drogas?		SI <input type="radio"/>	NO <input checked="" type="radio"/>
19. ¿Ha recibido vacunas?		SI <input type="radio"/>	NO <input checked="" type="radio"/>
Cuáles: <i>.....</i>			
20. ¿Viajó fuera del país en los últimos años?		SI <input type="radio"/>	NO <input checked="" type="radio"/>
21. ¿Pertenece usted o ha tenido contacto sexual con grupo de riesgo?		SI <input type="radio"/>	NO <input checked="" type="radio"/>
Homosexual <input type="checkbox"/> Bisexual <input type="checkbox"/> Promiscuo <input type="checkbox"/> Prostituta <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> Otros <input type="checkbox"/>			
22. ¿Con cuántas personas tuvo contacto sexual en los últimos tres años?		<i>1</i>	
23. ¿Tiene usted SIDA o ha tenido alguna prueba para SIDA positiva?		SI <input type="radio"/>	NO <input checked="" type="radio"/>
24. ¿Ha sido excluido como donante anteriormente?		SI <input type="radio"/>	NO <input checked="" type="radio"/>
¿Por qué? <i>.....</i>			
EXAMEN CLÍNICO :			
Peso:	Kg.	Talla:	m.
		PA:	Pulso
Entrevistador: <i>.....</i>			