

870127

# UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA 10

Incorporada a la Universidad Nacional Autónoma de México 20

## Escuela de Ciencias Químicas



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**"VALORACION DE TIEMPO DE PROTROMBINA UTILIZANDO  
REACTIVOS DE ORIGEN ANIMAL Y HUMANO EN PACIENTES  
CON TERAPIA ANTICOAGULANTE."**

**TESIS PROFESIONAL**

que para obtener el título de:

**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

presenta:

**ARMIDA VERONICA CRESPO PEÑA**

**Asesor: Q.F.B. Yolanda Sánchez de la Puente**



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# I N D I C E

	Página	
I.-	INTRODUCCION,	1
II.-	GENERALIDADES.	4
	A. HEMOSTASIA.	5
	1. Vasoconstricción Local.	6
	2. Hemostasia Primaria: Formación del Trombo Plaquetario.	7
	3. Formación del trombo de Fibrina.	8
	a. Fase inicial: Activación del Contacto.	9
	b. Fase intermedia: Formación de Trombina.	9
	c. Fase final: Formación y Estabilización de Fibrina.	10
	4. Inhibidores de la Coagulación.	12
	5. Sistemas Fibrinolíticos.	13
	a. Activación de la Fibrinólisis.	14
	b. Inhibidores de la Fibrinólisis.	15
	1. Antiplasmiinas.	15
	2. Antiactivadores.	16
	B. Relación entre Coagulación Intrínseca y Ex- trínseca.	16
	C. Relación entre Coagulación y Fibrinólisis.	17
III.-	MATERIAL Y METODOS.	19
	A. MATERIALES.	20
	B. METODOS.	21

1. TIEMPO DE PROTROMBINA.	21
a. Equipo Reactivo de Ortho.	21
b. Equipo Reactivo de Bioxon.	23
c. Equipo Reactivo Simplastin.	24
d. Equipo Reactivo Thromborel S.	25
2. TASA DE PROTROMBINA.	26
3. TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL.	26
4. EVALUACION.	28
a. Curvas de Actividad.	28
b. Sensibilidad.	28
c. Reproducibilidad.	28
1. Media Aritmética.	29
2. Desviación Estandar.	29
d. Rango Terapéutico.	29
e. Estabilidad.	29
f. Pérdida de Actividad.	29
g. Coeficiente de Correlación.	30
IV.- RESULTADOS.	31
V.- ANALISIS DE RESULTADOS.	49
VI.- CONCLUSIONES.	54
VII.- BIBLIOGRAFIA.	56

C A P I T U L O   I  
I N T R O D U C C I O N .

El empleo de los principales anticoagulantes farmacológicos indudablemente ha evitado muchas muertes por trombosis y embolias. Sin embargo, deben utilizarse prestando la debida atención al control de laboratorio (1) para evitar cuadros hemorrágicos por sobredosis.

Se discute el empleo de anticoagulantes farmacológicos para suprimir la fase bioquímica de la coagulación de la sangre en pacientes sometidos a cirugía vascular reconstructora, embolia pulmonar y en enfermos con tromboflebitis; antes de administrar estos medicamentos el médico por la historia clínica, el exámen físico y los datos de laboratorio, ha de determinar la posible existencia actual o potencial de una fuente de hemorragia. Luego ha de valorar (4), el riesgo de hemorragia contra el de tromboembolia para el paciente que está considerando.

Dado el efecto variable de estos medicamentos sobre la hemostasia según los individuos, no pueden utilizarse con seguridad, si no se dispone de un laboratorio de confianza que permita medir sus efectos. La prueba más utilizada (1) para comprobar la terapéutica anticoagulante mediante los derivados de cumarina-indandiona es la prueba de Protrombina de Quick en un solo tiempo.

La duda persiste debido a que ocasionalmente se presentan síntomas hemorrágicos en pacientes en los cuales el tiempo de Quick, reportado por el laboratorio está dentro de los límites

terapéuticos. Con frecuencia lo más sencillo es responsabilizar al laboratorio de éstos episodios de sangrado y el laboratorio por concienzudo que pueda ser, comienza a tener dudas sobre su trabajo.

El presente estudio pretende demostrar la confiabilidad de diversos reactivos disponibles en el mercado, los cuales fueron equipos reactivos de Ortho, Bioxon, Simplastin y Thromborel S, utilizados para llevar a cabo la determinación de los parámetros anticoagulantes, como son Tiempo de Protrombina y Tiempo de Trombo plastina parcial, necesarios para el buen control de los pacientes sometidos a la terapia anticoagulante.

CAPITULO II  
GENERALIDADES.



## A. HEMOSTASIA.

La hemostasia es un sistema de defensa del organismo, cuya principal función es prevenir la salida de sangre del interior de los vasos y mantener la integridad de la pared vascular restableciendo la circulación de la sangre cuando se ha obstruido un vaso. (3)

La hemostasia engloba una serie de mecanismos, unos rápidos de respuesta inmediata, otros más lentos que mantienen y consolidan la hemostasia y, por último, los que regulan y controlan una hemostasia excesiva.

Se pueden clasificar para su estudio (2) en:

- 1) vasoconstricción local o componente vascular, 2) formación del trombo plaquetario, 3) formación del trombo de fibrina y 4) fibrinólisis o disolución del coágulo de fibrina.

Todos estos mecanismos no son independientes unos de otros, sino que están íntimamente relacionados y, a pesar de que se desencadenan simultáneamente, su desarrollo es secuencial (2) dependiendo del papel que cada uno tiene en la hemostasia.

### A.1. VASOCONSTRICCIÓN LOCAL.

Cuando se produce una incisión en la piel la pérdida de sangre es mínima durante los primeros segundos, aumentando después progresivamente. Esto obedece a que se produce una vasoconstricción rápida, seguida de relajación. Esta vasoconstricción por mecanismo reflejo (1) es el resultado de la estimulación directa de los nervios simpáticos existentes en la pared de los vasos.

Posteriormente tiene lugar una vasoconstricción por estímulo químico, provocada por la salida del interior de las plaquetas de sustancias vasoactivas, (2) como la serotonina, y por prostaglandinas, como el tromboxano A<sub>2</sub>.

Paralelamente a esto, en el endotelio vascular se sintetiza una prostaglandina, la prostaciclina (PGI<sub>2</sub>), que es fuertemente vasodilatadora, (2) habiéndose demostrado mayor cantidad de síntesis en la pared de las venas que en la de las arterias.

Todo ello hace pensar que la prostaglandina representa un mecanismo regulador de la vasoconstricción, si bien no se ha podido dilucidar cuál es el verdadero papel de estas sustancias en la fisiología de esta fase de la hemostasia.

## A.2. HEMOSTASIA PRIMARIA : FORMACION DEL TROMBO PLAQUETARIO.

La hemostasia comprende una serie de fenómenos que culminan con la formación de agregados plaquetarios o trombo plaquetario.

Es una respuesta rápida y provisional de la hemostasia en la que participan fundamentalmente las plaquetas y la pared vascular.

Se pueden distinguir los procesos :

a) adhesión a la pared vascular, b) cambio de forma y contracción de las plaquetas, c) reacción de liberación o secreción del contenido de los gránulos, d) agregación de las plaquetas o formación del trombo plaquetario y e) agregación irreversible o estabilización por la fibrina.

## A.3. FORMACION DEL TROMBO DE FIBRINA.

El proceso de coagulación de la sangre tiene como final la formación de fibrina, por la transformación de una proteína soluble, fibrinógeno, en una proteína insoluble, fibrina, cuyas redes constituyen la trama fundamental del coágulo.

En su composición participan otros elementos de la sangre como plaquetas, hematíes y leucocitos; la mayor o menor proporción de los distintos componentes del coágulo, depende del calibre del vaso y sobre todo de su localización, (5) pues es diferente si se trata de arteria o vena; en las arterias predominan las plaquetas por la rapidez de circulación (1), mientras que en las venas predominan los hematíes.

El mecanismo por el que se llega a la formación de fibrina produce la activación de unos factores plasmáticos llamados factores de coagulación, todos ellos proteínas, (2,4) que una vez activados se comportan como enzimas proteolíticas sobre otros, activándolos a su vez, constituyendo una reacción concatenada que se ha llamado por ello cascada de la coagulación.

Intervienen en las reacciones otros factores como coenzimas o cofactores (2) que catalizan la reacción. El proceso de activación culmina con la formación de trombina que es la enzima proteolítica capaz de transformar el fibrinógeno en fibrina.

Clásicamente se distinguen dos vías de activación de la coagulación: vía intrínseca en la que sólo participan factores plasmáticos y vía extrínseca, mucho más rápida, (5) que se desencadena por la presencia en el torrente circulatorio de un factor extrínseco a la sangre. factor hístico.

Frente al sistema de activación de la coagulación, existe un sistema de inhibidores, (1) el equilibrio de ambos sistemas, junto con otros mecanismos de regulación mantienen la fluidez de la sangre en el torrente circulatorio.

Se pueden distinguir tres fases (2) en la coagulación:

a) fase inicial de activación del contacto, b) fase intermedia, con formación de trombina, y c) fase final con formación y estabilización de fibrina.

#### A.3.a. FASE INICIAL: ACTIVACION DEL CONTACTO.

Factores que intervienen:

Son los llamados factores de contacto, factores XII, XI, Fletcher y Fitzgerald.

Comprende dos etapas, en la primera tiene lugar la activación del factor XII y, en la segunda, la activación del factor XI por el factor XIIa; ambos factores junto con la calicreína y el quinínógeno (2) constituyen el producto contacto, que participa no sólo en la hemostasia sino en otros sistemas de defensa.

#### A.3.b. FASE INTERMEDIA: FORMACION DE TROMBINA.

Factores que intervienen:

Factores vitamina K dependientes, (IX, X, II Y VII) y otras proteínas como proteína C, S y osteocalcina. (6)

El factor Xa es la proteasa que activa la protrombina transformándola en trombina. La reacción se produce por la formación de un complejo del factor Xa con el factor V, fosfolípidos y Calcio.

Los fosfolípidos forman una superficie micelar que favorece la reacción y el papel del factor V como cofactor, es similar al del factor VIII, (2) no posee actividad enzimática, pero su actividad se incrementa por la acción de la trombina y dependiendo de la concentración de trombina a medida que esta aumenta se produce la inactivación progresiva irreversible del factor V.

La trombina es capaz de actuar sobre la propia protrombina con proteólisis entre los fragmentos 1 y 2, liberando únicamente el fragmento 1, que es el que contiene los grupos gama-carboxilglutámicos, lo que impide que se active completamente por el factor Xa (6), esta acción de la trombina podría considerarse como un mecanismo de regulación de la formación excesiva de trombina.

#### A.3.c. FASE FINAL: FORMACION Y ESTABILIZACION DE FIBRINA.

La etapa final de la coagulación, es en la que la trombina

actúa proteolíticamente sobre el fibrinógeno transformándolo en fibrina y también se activa el factor XIII que introduce enlaces covalentes en la fibrina transformándola (5) en estable o insoluble.

La trombina actúa sobre la molécula de fibrinógeno en el extremo N terminal de cada una de las cadenas alfa-A y beta-B hidrolizando los enlaces arginil-glicina y dando lugar a la formación de monómeros, después se produce polimerización espontánea por enlaces de hidrógeno formándose la fibrina como gel soluble.

El fragmento B parece que estimula la contracción vascular. Enzimas procedentes de venenos rompen selectivamente la cadena alfa-A, y liberando únicamente el fragmento A son capaces de formar fibrina. Las uniones entre los monómeros no son covalentes, por lo que la fibrina formada es soluble por pH ácido o agentes desnaturalizantes.

La estabilización de la fibrina (5) se realiza en dos etapas: 1) se activa el factor XIII por la trombina, 2) el factor XIIIa actúa como transglutaminasa introduciendo enlaces covalentes entre los monómeros de fibrina.

El factor XIIIa introduce enlaces gamma glutamil-lisina en los grupos amino de las cadenas gamma de monómeros adyacentes; más lentamente se introducen enlaces entre las cadenas alfa.

Los enlaces covalentes entre los monómeros convierten la fibrina en estable e insoluble (5) y por ello es más resistente a la digestión por la plasmina.

#### A.4. INHIBIDORES DE LA COAGULACION.

Existen en el plasma unas proteínas específicas que actúan sobre los factores activos formando complejos con ellos y provocando su inactivación progresiva e irreversible; (2) son llamados antiproteasas.

Estas antiproteasas reciben el nombre genérico de antitrombinas, por ser su acción más importante sobre la trombina. La capacidad antitrombínica del plasma es mucho mayor que la necesaria para neutralizar toda la trombina que puede generarse en el plasma.

Entre las más importantes antitrombinas se encuentran:

a) antitrombina III (alfa-2-ATIII) también llamada cofactor de la heparina; b) alfa-2 macroglobulina; c) alfa-1 antitripsina.

La alfa-2-ATIII representa la actividad inhibidora más importante con el 70% de la actividad antitrombínica total, mientras que la alfa-2 macroglobulina puede representar el 25-30% y no se conoce exactamente cuál es el % de la alfa-1 antitripsina.



#### A.5. SISTEMA FIBRINOLITICO.

La fibrinólisis es el proceso responsable de la degradación enzimática del coágulo de fibrina. Es la etapa final de la hemostasia que elimina los depósitos de fibrina formados en la etapa de coagulación (10) cuando han cumplido su función en la detención de la hemorragia y al mismo tiempo, restaura el flujo sanguíneo.

Es importante en la fisiología de la hemostasia el que exista un balance adecuado entre el sistema de coagulación y el sistema de fibrinólisis.

El mecanismo responsable de la fibrinólisis es el sistema plasminógeno-plasmina. Existe un mecanismo de activación y un mecanismo de inhibición, (11) lo que permite mantener un equilibrio en el sistema.

##### A.5.a. ACTIVACION DE LA FIBRINOLISIS.

La enzima responsable de la lisis de la fibrina es la plasmina que se forma a partir del plasminógeno, por acción de una serie de activadores.

Existen diversos mecanismos de activación del plasminógeno, vía endógena y vía exógena (11) por el paso de activadores histiocos a la sangre.

**Activadores exógenos:**

- a) Hísticos; pulmón, próstata, páncreas, útero, cerebro y tiroides, no se ha encontrado en placenta e hígado.
- b) Celulares; eritrocina en hematíes y leucocitos, especialmente en los neutrófilos y no parece existir en las plaquetas.
- c) En secreciones: leche, saliva, líquido seminal y bilis; no se ha encontrado en sudor.
- d) En orina: urocina.
- e) Vasculares: en el endotelio de venas y arterias.

**Activadores endógenos:**

- a) Plasmático: es el activador endotelial que se libera al plasma ante determinados estímulos. El mecanismo de salida es de secreción fisiológica sin ruptura endotelial, su liberación se produce por muy diversos estímulos como el ejercicio, stress, sustancias vasoactivas, oclusión venosa con estasis, etc.
- b) Por vía (factor XII): la activación del contacto es capaz de producir plasmina por medio de un proactivador del

plasminógeno que se ha identificado recientemente con la calicreína.

Otro activador del plasminógeno es la estreptocinasa, derivada del estreptococo beta-hemolítico, que si bien no es un activador fisiológico en el organismo, si tiene gran importancia por su empleo como agente en la terapéutica trombolítica.

#### A.5.b. INHIBIDORES DE LA FIBRINOLISIS.

Existen dos tipos de inhibidores:

- a) Inhibidores de plasmina, (antiplasminas).
- b) Inhibidores del plasminógeno.

##### A.5.b.1. ANTIPLASMINAS.

Se han descrito varias proteínas que pueden actuar como antiplasminas:

- 1) alfa-2 macroglobulina; de acción rápida y reversible, la unión provoca cambios conformacionales en la molécula de alfa-2 macroglobulina con rotura proteolítica y la plasmina queda atrapada por esta macromolécula, pudiendo atacar a pequeños sustratos que pueden acceder a ella.
- 2) alfa-1 antitripsina; su mecanismo de acción no se conoce pero es lenta e irreversible.

- 3) Antitrombina III; al ser la plasmina una proteína con centro activo serina, forma complejo con antitrombina III, similar al de la trombina.

#### A.5.b.2. ANTIATIVADORES.

La existencia de inhibidores fisiológicos de la activación del plasminógeno ha sido muy discutida y su demostración presenta dos obstáculos principales; la dificultad de medir antiactivadores en presencia de antiplasmina, y, que algunos antiplasminas pueden tener afinidad por activadores del plasminógeno confiriéndoles esta capacidad inhibidora, pero sin requerir la presencia de inhibidores específicos. Así se ha demostrado para la alfa-2 antiplasmina, alfa-2 macroglobulina y alfa-1 antitripsina.

#### B. RELACION ENTRE COAGULACION INTRINSECA Y EXTRINSECA.

La interacción entre ambas vías es doble, de un lado el F VII se puede activar vía F XIIa y de otro, el F VIIa es capaz de activar proteolíticamente el F IX (12). Por todo ello no se pueden considerar dos vías independientes de activación de la coagulación, sino que fisiológicamente pueden ser consideradas alternativas, compensando la una, la deficiencia de la otra.

### C. RELACION ENTRE COAGULACION Y FIBRINOLISIS.

La vía intrínseca de la fibrinólisis se activa por medio de la transformación del proactivador del plasminógeno que es la precalicreína en calicreína mediada por los fragmentos del Factor XIIa, la calicreína no sólo activa el plasminógeno, sino que también activa el Factor XII, demostrando un mecanismo de retroalimentación entre ambos sistemas.

En la inhibición de la coagulación así como en la fibrinólisis también existen puntos comunes, ya que por ejemplo la ATIII que es el más importante inhibidor sobre la plasmina, y otras antiproteasas como la alfa-2 macroglobulina, alfa-1 antitripsina, actúan como antitrombinas y como antiplasminas.

La figura No.1 ejemplifica estas relaciones.

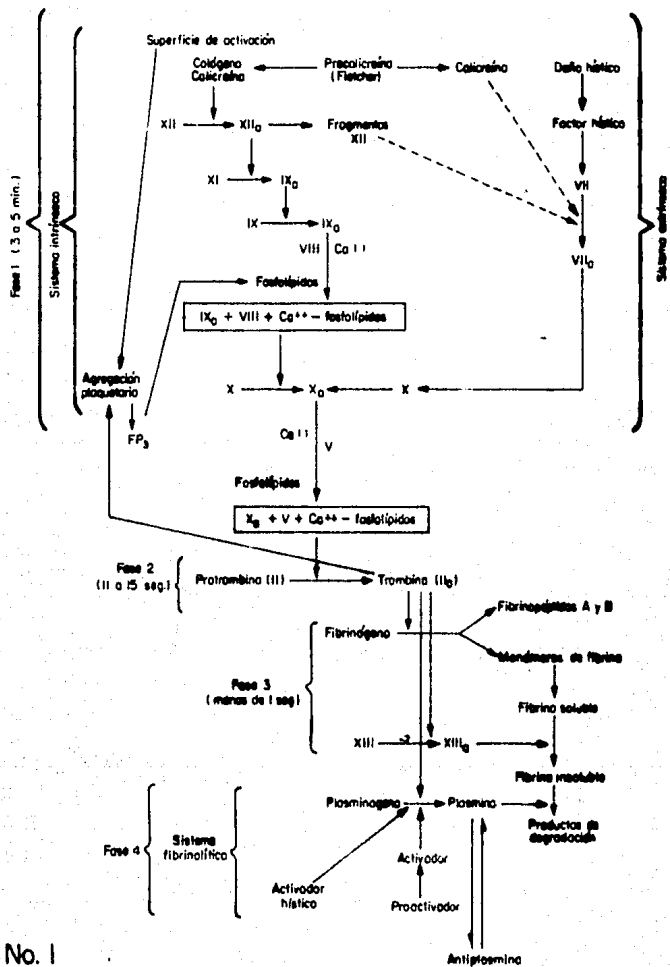


Fig. No. 1  
MECANISMOS DE COAGULACION Y FIBRINOLISIS.

CAPITULO III

MATERIAL Y METODOS.

#### A. MATERIALES.

Centrífuga.

Tubos de centrifuga graduados especiales para la prueba.

Jeringas estériles - Agujas calibre No. 20.

Pipetas de 0.1 ml, 0.2 ml, 5.0 ml y 10.0 ml.

Fibrómetro.

Agua destilada.

Anticoagulante - Citrato de Sodio al 3.8%

Equipos Reactivos:

- 1) Ortho. (Lote OBT 932).
- 2) Bioxon. (Lote 14J61).
- 3) Simplastin. (Lote L-021).
- 4) Thromborel S. (Lote 5055419 A).
- 5) Behring-Neothromtin. (Lote 501619 A).

Material Biológico.

Para la realización del presente trabajo se estudiaron 50 muestras provenientes de pacientes con terapia anticoagulante.

Las muestras fueron seleccionadas bajo las siguientes características:

- 1) Provenientes de pacientes sometidos tanto a cirugía electiva como de urgencia.
- 2) Grupos de edades comprendidos de 15 a 75 años.
- 3) Enfermedad quirúrgica angiológica única.
- 4) Con enfermedad concomitante bajo control.
- 5) Ambos sexos.



## B. METODOS.

### B.1. TIEMPO DE PROTROMBINA.

La determinación del Tiempo de Protrombina en un solo paso es un procedimiento útil, de uso generalizado, que permite detectar posibles deficiencias de los factores de la coagulación que intervienen en el Sistema Extrínseco de la coagulación (Factores II, V, VII y X).

Es la prueba de laboratorio que más se utiliza para vigilar los resultados de la terapia con anticoagulantes orales y constituye la prueba de mayor sensibilidad (15, 16) para el estudio de dos factores críticos que se ven afectados por el uso de estos anticoagulantes, como lo son los factores VII y X.

El proceso de coagulación se desencadena mediante la incubación del plasma con cantidades óptimas de tromboplastina y calcio; se mide el tiempo transcurrido hasta la formación de un coágulo de fibrina.

Para la realización de la prueba se emplea un volumen de plasma y dos volúmenes de reactivo.

#### B.1.a. EQUIPO REACTIVO DE ORTHO.

La Ortho Tromboplastina es un extracto puro de cerebro de conejo al que se le ha adicionado calcio.

#### B.1.a.1. Preparación del reactivo.

1. Antes de reconstituir con agua destilada los frascos de Ortho Tromboplastina deberán estar a temperatura ambiente.
2. Al frasco para 25 determinaciones agregar 5.0 ml de agua destilada.
3. Después de adicionar el agua, agitar el frasco para asegurar que el reactivo liofilizado que se encuentra en las paredes del frasco se ha disuelto.

#### B.1.a.2. Procedimiento.

1. Calentar a 37°C un tubo de ensaye que contiene Ortho Tromboplastina.
2. En un tubo de ensaye o cubeta que corresponda agregar 0.1 ml del plasma de prueba; incubar a 37°C por uno ó dos minutos.
3. Agregar, rápidamente 0.2 ml de Ortho Tromboplastina al tubo que contiene el plasma. Simultáneamente activar un cronómetro para medir el tiempo que demande la detección del coágulo.
4. Registrar el tiempo que se requiera para la formación del coágulo en segundos y fracciones.
5. Duplicar la prueba.
6. Reportar el promedio de los valores obtenidos como Tiempo de Protrombina.

7. Correr plasma control, normal y anormal, siguiendo el procedimiento descrito.

#### B.1.a.3. Valores de referencia.

Un valor normal, usando Ortho Tromboplastina es de 10 a 14 segundos. Sin embargo, debido a las variaciones interlaboratorios y las variaciones entre técnicas manuales y automatizadas, cada laboratorio debe establecer su propio rango normal en la población, así como los rangos normales y anormales utilizando un "pool" de plasmas provenientes de donadores sanos.

#### B.1.b. EQUIPO REACTIVO DE BIOXON.

La Tromboplastina liofilizada Bioxon es un extracto purificado de tromboplastina, obtenida de cerebro y pulmón de conejo. Está libre de los Factores VII y X y es realmente sensible a los Factores II, V, VII y X.

Es un reactivo a base de tromboplastina y calcio optimizado para la determinación de tiempos de protrombina en plasma humano y detectar anomalías en el sistema de coagulación extrínseco.

#### B.1.b.1. Preparación del reactivo.

El frasco para 20 determinaciones se reconstituye con 4.2 ml de agua destilada. Una vez reconstituido se espera 15 min. antes de hacer la determinación para obtener una actividad óptima.

**B.1.b.2. Procedimiento.**

Es el mismo ya descrito para el reactivo de Ortho.

**B.1.b.3. Valores de referencia:** de 10 a 14 segundos.

**B.1.c. EQUIPO REACTIVO SIMPLASTIN.**

Reactivo a base de Tromboplastina tisular de cerebro y pulmón de conejo.

**B.1.c.1. Preparación del reactivo.**

El frasco para 20 determinaciones se reconstituye con 4.0 ml de agua destilada. Se mezcla y se deja reposar durante 5 min. para asegurar que se realice una rehidratación completa. Se mantienen, tanto los reactivos sin abrir como aquellos ya reconstituídos a temperatura entre 2°C y 8°C. Una vez reconstituído, el reactivo retendrá toda su utilidad durante un día completo de trabajo, si se tiene el cuidado de taparlo bien y refrigerarlo entre 2°C y 8°C, durante todo el tiempo en que no se le use.

**B.1.c.2. Procedimiento.**

El mismo ya descrito anteriormente para el reactivo de Ortho, exceptuando el paso No. 2, en el que se debe incubar el por 3 min., en lugar de hacerlo de 1 a 2 min.

**B.1.c.3. Valores de referencia:** de 12 a 14 segundos.

### B.1.d. EQUIPO REACTIVO THROMBOREL S.

Es una proteína liofilizada extraída de placentas humanas. Contiene estabilizadores y medios de suspensión que garantizan la preparación rápida de una suspensión estable. La concentración de iones de calcio está adaptada a las necesidades de la prueba.

#### B.1.d.1. Preparación del reactivo.

El frasco para 50 determinaciones se reconstituye con 10 ml de agua destilada. Se pasa a un tubo de ensaye y se incuba a 37°C durante 15 min por lo menos antes de usarlo.

#### B.1.d.2. Procedimiento.

El mismo ya descrito anteriormente para el reactivo de Ortho, exceptuando el paso No.2, en el que se debe incubar el plasma sólo por 1 min.

#### B.1.d.3. Valores de referencia.

El Tiempo de Protrombina se expresa en seg., en % ó como tasa de protrombina.

Valor de referencia: mayor o igual 70% del normal, tasa de protrombina mayor o igual a 1.2 ó de 11 a 14 seg.

Límites terapéuticos: 15 a 27% de actividad del plasma o tasa de protrombina de 2.4 a 4.0.

### B.2. TASA DE PROTROMBINA. (PR)

Se obtiene mediante la relación:

$$\frac{\text{Tiempo de protrombina de la muestra en seg.}}{\text{Tiempo de protrombina del plasma normal, en seg.}} = PR$$

Se utiliza como una medida para expresar el Tiempo de protrombina, lo mismo que en seg ó % de actividad del plasma. Es útil para el médico, ya que conociendo la tasa de protrombina, conoce la dosis terapéutica de anticoagulación.

Límites terapéuticos:

Utilizando reactivos de origen animal será de 1.5 a 2.5 con un % de 10 a 20%.

Utilizando reactivos de origen humano será de 2.4 a 4.0 con un % de 15 al 27%.

Interpretación:

Un valor inferior al límite establecido indica que aún no se ha alcanzado la dosis terapéutica. Por el contrario un valor superior es indicativo de que el paciente se encuentra ya en una sobredosis.

### B.3. TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL.

El Tiempo de Tromboplastina Parcial puede definirse como el tiempo de coagulación recalcificado en presencia de una tromboplastina parcial lipídica en lugar de en presencia de una tromboplastina completa, como la que se usa para la determinación del Tiempo de Protrombina.

Es un análisis útil como prueba de cribado para la detección de deficiencias de cualquiera de los Factores coagulantes indicados a continuación: Fibrinógeno, Protrombina, Factores, V, VIII, IX, X, XI y XII.

Con esta prueba pueden determinarse las deficiencias de todos los factores coagulantes, exceptuando las plaquetas y los factores VII y XIII.

El equipo utilizado para la prueba fué Behring-Neothromtin, el cual está constituido de fosfolípido vegetal y ácido egálico, estabilizado con glicina.

#### Preparación del reactivo.

El frasco para 100 determinaciones se reconstituye con 10 ml de agua destilada. Se mezcla y se deja reposar durante 15 min antes de realizar la prueba.

#### Procedimiento.

1. Introducir 0.1 ml del plasma del paciente y 0.1 ml del reactivo en un tubo o cubeta previamente incubado a 37°C.
2. Mantener a esta temperatura exactamente 2 min con el fin de activar completamente el sistema intrínseco de la coagulación.
3. Adicionar 0.1 ml de cloruro de calcio 0.025M previamente incubado a 37°C. Activar el cronómetro.
4. Medir el tiempo transcurrido hasta la formación de un coágulo de fibrina.

Valores de referencia: 30 a 45 seg.

#### B.4. EVALUACION

##### B.4.a. CURVAS DE ACTIVIDAD.

Se determinó la curva de actividad de cada reactivo preparando estándares de diferentes concentraciones a partir de un "pool" de plasmas normales y diluyendo con solución salina. Se midió el Tiempo de Protrombina de cada estándar y de esta manera se obtuvo la respectiva curva, teniendo la concentración conocida vs. el tiempo en seg.

##### B.4.b. SENSIBILIDAD.

La Sensibilidad de cada reactivo se obtiene a partir de su respectiva curva de actividad. Se determina la diferencia en seg. entre un 100 y un 50% de actividad del plasma.

Se considera que un reactivo es sensible cuando es capaz de detectar entre un 100 y un 50% de actividad de 4 a 6 seg. de diferencia.

##### B.4.c. REPRODUCIBILIDAD.

Consiste en medir varias veces los tiempos de protrombina de un mismo "pool" de plasmas normales. Se obtiene la Media y su Desviación Estandar, con el fin de obtener los rangos normales para cada reactivo.

En el presente trabajo se llevaron a cabo 50 mediciones con cada uno de los diferentes reactivos. Los resultados se muestran en el siguiente capítulo.



#### B.4.c.1. MEDIA ARITMETICA.

Es una medida de tendencia central que viene a equivaler al promedio.

#### B.4.c.2. DESVIACION ESTANDAR.

Es la más usual medida de desviación. Es la raíz cuadrada de la suma de las desviaciones medias al cuadrado dividida por el número de frecuencias. La desviación estandar suele ser simbolizada por la sigma griega minúscula.

#### B.4.d. RANGO TERAPEUTICO.

El rango terapéutico para cada reactivo se calcula dividiendo el tiempo de protrombina obtenido para la dilución al 20% sobre el plasma normal, y lo mismo para la dilución al 10%.

Esto viene a ser la Tasa de Protrombina en la que se basará el médico para conocer la dosis de anticoagulación en que se encuentra su paciente.

#### B.5.e. ESTABILIDAD.

Se midió la estabilidad de cada reactivo a diferentes temperaturas durante 7 días, con el fin de observar algún cambio en los tiempos de protrombina al paso de los días.

#### B.5.f. PERDIDA DE ACTIVIDAD.

Se midió la pérdida de actividad de cada reactivo transcurridos 3 y 7 días a diferentes temperaturas.

El % de pérdida de actividad se calcula tomando como base 100% el tiempo de protrombina obtenido el día que se inicia la medición y dividiendo sobre el tiempo de protrombina pasado los días.

El % de pérdida de actividad es el que resulta de la diferencia entre el 100% y el nuevo % obtenido.

#### B.5.g. COEFICIENTE DE CORRELACION.

Para el cálculo de una medida de la correlación, se admite que un punto de medición con elevado valor de x debería tener también un gran valor de y si existiese una fuerte correlación entre ambas dimensiones. Esto puede ser utilizado multiplicando y sumando las desviaciones estándares de x e y finalmente se corrige con el número de pruebas n. De esa manera, se obtiene la fórmula del coeficiente de correlación:

$$r = \frac{\sum X_i Y_i - \frac{1}{n} (\sum X_i) (\sum Y_i)}{\sqrt{\left[ \sum X_i^2 - \frac{1}{n} (\sum X_i)^2 \right] \left[ \sum Y_i^2 - \frac{1}{n} (\sum Y_i)^2 \right]}}$$

El coeficiente de correlación adquiere valores ubicados entre -1 y +1. Un valor de 0 denota la inexistencia de correlación entre x e y; un valor de +1 ó -1 significa correlación plena (positiva o negativa).

Los cálculos para la obtención de los coeficientes de correlación se llevaron a cabo en la computadora modelo Hewlett Packard Vectra.

CAPITULO IV

RESULTADOS .

EQUIPOS REACTIVOS					
MUESTRA	T P seg.				TTP seg.
	ORTHO	RIOXON	SINPLASTIN	THROMBOREL	NEOTHROMTIN
1	11.9	13.8	12.8	14.3	59.3
2	23.8	26.8	26.8	36.3	64.7
3	21.3	25.2	33.8	36.8	>120.0
4	30.7	27.3	32.3	34.8	72.5
5	10.8	10.3	10.8	10.3	30.8
6	52.8	29.8	30.8	43.7	66.9
7	17.9	16.8	17.8	21.3	>120.0
8	25.8	16.3	20.8	26.8	61.8
9	14.4	12.3	14.6	14.3	47.7
10	16.8	12.7	16.3	18.8	45.9
11	20.4	24.3	25.0	28.3	60.9
12	12.8	12.8	13.8	12.8	>120.0
13	40.3	35.0	40.3	56.8	100.0
14	24.3	24.8	31.8	28.8	61.8
15	15.4	15.3	16.4	17.5	59.7
16	12.3	12.8	12.7	13.3	38.4
17	17.3	16.8	18.3	20.8	56.4
18	36.8	34.3	41.8	52.7	106.8
19	19.3	19.3	23.3	25.3	50.8
20	21.3	20.8	22.8	24.3	45.8
21	10.8	11.8	12.3	10.3	30.2
22	14.0	14.3	18.3	20.3	40.8
23	10.8	11.2	12.2	11.8	31.3
24	20.7	19.6	24.3	32.3	40.2
25	12.8	12.7	13.3	13.8	41.4
26	11.4	11.6	12.8	12.4	48.2
27	17.0	16.3	15.8	28.8	>120.0
28	11.9	12.7	12.8	11.8	34.3
29	11.2	11.8	11.8	11.8	31.9
30	14.4	13.8	16.3	19.2	76.4
31	21.9	22.2	26.4	27.8	57.7
32	36.9	32.8	43.2	53.3	94.3
33	13.3	11.8	12.8	12.8	43.3
34	41.8	35.8	30.2	40.8	30.2
35	33.2	32.3	44.6	44.3	70.2
36	40.9	38.3	50.2	50.3	54.9
37	22.8	22.4	33.6	31.8	65.6
38	12.8	12.4	17.3	15.8	40.7
39	31.3	28.7	33.8	41.3	59.2
40	22.8	20.0	24.2	30.3	88.8
41	22.8	17.3	18.2	23.4	47.3
42	12.3	13.6	14.4	16.4	72.4
43	12.8	13.3	14.8	16.8	46.2
44	63.3	64.6	70.2	74.2	120.4
45	60.9	60.6	74.3	99.8	107.9
46	16.9	15.8	13.8	13.8	>120.0
47	19.3	20.4	23.3	17.8	55.7
48	15.8	16.3	18.3	20.3	112.8
49	17.8	16.6	16.3	17.3	46.6
50	27.3	24.8	27.3	33.8	>120.0

TP = TIEMPO DE PROTROMBINA  
TTP = TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL

TABLA # 1. VARIACION EN TP Y TTP DE 50 MUESTRAS DE PACIENTES CON TERAPIA ANTICOAGULANTE.

CURVA DE ACTIVIDAD				
PORCENTAJE	BIOXON	ORTHO	SIMPLASTIN	THROMBOREL S.
100 %	11.3°	10.8°	12.7°	11.8°
80 %	11.8°	11.8°	12.8°	12.5°
50 %	12.7°	13.5°	15.1°	16.1°
40 %	16.3°	15.5°	17.8°	19.4°
30 %	18.7°	18.6°	24.6°	24.8°
20 %	19.2°	23.5°	28.2°	39.5°
10 %	29.8°	50.1°	45.3°	75.0
5 %	49.3°	60.3°	64.8°	107.2°

TABLA # 2. RELACION DEL PORCENTAJE DE ACTIVIDAD DEL PLASMA VS. EL TIEMPO EN SEGUNDOS.

MUESTRA	ARTHO		BIOXON		SIMPLASTIN		THROMBOLIS	
	%	FR.	%	FR.	%	FR.	%	FR.
1	79.8	1.16	47.00	1.33	80.00	1.24	66.00	1.35
2	19.00	2.31	16.00	2.29	24.00	2.60	21.50	3.46
3	24.00	3.07	13.50	3.42	15.80	3.28	21.30	3.50
4	14.00	3.98	12.00	3.63	17.00	3.14	22.60	3.31
5	100.00	1.08	100.00	0.99	100.00	1.05	100.00	0.98
6	8.00	5.13	10.00	2.87	18.20	2.99	18.80	4.16
7	31.50	1.74	38.00	1.62	40.00	1.73	35.00	2.03
8	18.50	2.50	39.00	1.57	35.50	2.02	28.50	2.55
9	46.00	1.40	60.00	1.18	57.00	1.42	64.00	1.36
10	34.00	1.63	50.00	1.22	45.50	1.58	41.50	1.77
11	25.50	1.96	14.50	2.36	28.50	2.43	27.50	2.70
12	55.00	1.23	49.80	1.24	63.00	1.34	79.50	1.22
13	12.50	3.80	9.50	3.13	12.50	3.91	13.60	5.41
14	17.50	2.34	14.00	2.41	17.40	3.09	26.70	2.80
15	41.00	1.48	43.00	1.49	44.60	1.59	45.50	1.70
16	60.00	1.18	49.80	1.24	100.00	1.23	75.00	1.29
17	33.60	1.68	38.00	1.63	39.00	1.73	36.50	2.02
18	14.00	3.58	9.00	3.33	11.60	3.94	15.00	5.02
19	27.00	1.92	19.80	1.87	32.00	2.20	29.50	2.46
20	24.00	2.07	18.00	2.02	32.50	2.15	30.80	2.36
21	100.00	1.05	80.00	1.15	100.00	1.14	100.00	1.00
22	47.50	1.35	45.00	1.39	39.00	1.73	38.00	1.97
23	100.00	1.04	100.00	1.09	100.00	1.15	100.00	1.13
24	35.00	1.79	19.50	1.92	30.60	2.27	24.00	3.11
25	55.00	1.23	50.00	1.25	68.50	1.25	70.00	1.33
26	85.00	1.10	83.00	1.14	80.00	1.21	83.00	1.19
27	33.80	1.65	32.00	1.79	28.00	2.48	26.70	2.72
28	80.00	1.16	50.00	1.25	80.00	1.23	100.00	1.16
29	90.00	1.09	60.00	1.16	100.00	1.13	100.00	1.16
30	45.50	1.38	47.00	1.35	45.50	1.57	41.00	1.83
31	23.00	2.15	16.80	2.18	26.00	2.54	28.00	2.70
32	13.50	3.42	9.00	3.12	10.80	3.15	14.80	5.17
33	51.00	1.30	80.00	1.16	80.00	1.23	100.00	1.11
34	12.00	4.10	8.50	3.51	18.50	2.90	19.50	4.00
35	15.00	3.25	9.30	3.17	10.40	4.29	16.00	4.34
36	12.00	1.01	7.80	3.75	8.80	4.83	16.00	4.84
37	21.00	2.24	16.50	2.20	16.00	3.23	24.00	3.06
38	55.00	1.25	56.00	1.22	41.50	1.66	52.00	1.55
39	16.00	3.01	11.00	2.79	15.80	3.25	19.20	4.01
40	21.00	2.19	19.50	1.94	30.80	2.33	25.50	2.94
41	37.00	1.57	37.50	1.68	39.50	1.75	31.50	2.25
42	60.00	1.24	47.50	1.32	57.50	1.38	49.00	1.61
43	55.00	1.17	47.80	1.29	54.00	1.42	47.50	1.65
44	4.00	6.15	2.00	6.27	4.00	6.75	10.50	7.13
45	4.80	5.82	3.50	5.88	2.50	7.08	6.00	9.50
46	51.00	1.28	52.00	1.22	68.00	1.33	75.00	1.29
47	28.50	1.86	19.30	1.96	32.00	2.24	28.00	2.70
48	42.00	1.44	39.00	1.58	39.00	1.76	38.00	1.97
49	33.00	1.71	38.30	1.61	45.50	1.57	45.80	1.62
50	28.00	2.63	14.00	2.41	22.50	2.60	23.00	3.25

Z = PORCENTAJE DE ACTIVIDAD DEL PLASMA  
 PR = TASA DE PROTROMBINA

TABLA # 3. RELACION DEL % DE ACTIVIDAD DEL PLASMA VS. LA TASA DE PROTROMBINA DE 50 MUESTRAS DE PACIENTES CON TERAPIA ANTICOAGULANTE.

NO. VECES	THAMORREL S SEG.	ORTHO SEG.	SIMPLASTIN SEG.	RIDOXN SEG.
1	10.3	9.5	11.8	10.2
2	9.8	9.4	11.3	10.6
3	10.4	10.6	11.3	10.3
4	10.1	10.2	11.8	9.6
5	10.1	9.9	11.8	9.8
6	10.1	9.6	11.8	9.4
7	9.7	8.4	11.8	8.6
8	10.1	8.6	11.8	10.3
9	10.1	7.3	11.3	10.6
10	10.5	10.6	10.8	10.8
11	10.3	9.8	10.8	10.2
12	10.3	9.9	10.6	8.8
13	9.8	10.4	10.8	10.2
14	10.3	8.6	10.7	9.6
15	9.8	9.8	9.8	9.8
16	10.3	9.8	9.8	10.8
17	9.8	9.6	10.3	10.2
18	10.3	8.8	9.8	10.4
19	10.3	8.9	10.8	10.0
20	10.4	10.2	9.8	9.8
21	10.1	9.9	11.3	8.8
22	10.1	9.6	11.3	10.4
23	10.1	9.8	10.8	10.2
24	10.1	8.9	10.3	9.6
25	10.1	9.8	10.4	9.4
26	10.1	9.4	10.4	9.8
27	10.1	9.9	10.8	10.0
28	10.1	10.2	10.3	10.2
29	10.1	10.0	9.8	10.4
30	10.1	10.4	10.8	10.3
31	9.9	9.4	9.3	9.6
32	9.8	9.4	9.3	9.8
33	10.1	10.4	9.8	10.3
34	10.1	10.2	10.4	10.6
35	10.1	10.0	10.8	9.8
36	10.1	10.0	9.9	10.4
37	10.1	8.6	11.8	10.3
38	10.1	10.2	11.6	10.1
39	10.1	10.1	11.2	9.8
40	10.1	9.8	11.8	9.6
41	10.1	9.8	10.8	9.7
42	10.1	9.4	10.6	9.8
43	10.1	10.0	11.4	10.3
44	10.4	10.2	11.8	10.6
45	10.3	9.9	11.8	10.3
46	10.3	9.8	9.8	10.0
47	9.8	9.6	9.8	10.8
48	10.4	10.2	10.6	10.3
49	10.3	10.6	11.6	10.4
50	10.3	10.3	11.3	10.4
MEDIA	10.2	9.7	10.8	10.0
DESV. STD.	0.262	0.680	0.745	0.475

TABLA # 4. REPRODUCIBILIDAD DE LOS DIFERENTES EQUIPOS REACTIVOS.

	Bioxon	Ortho	Simplastin	Thromborel S
ASPECTO	OPALESCENTE + HOMOGENEO C/PP	OPALESCENTE++ HOMOGENEO S/PP	OPALESCENTE++ HOMOGENEO C/PP	OPALESCENTE+++ HOMOGENEO S/PP
pH	7.42	7.25	7.38	7.30
D.O. 340 nm DIL. 1:10	0.079	0.052	0.064	0.047
REPRODUCCI- BILIDAD	10.0+-0.9	9.7+-1.3	10.8+-1.5	10.2+-0.5
SENSIBILIDAD	1.4"	2.7"	3.4"	4.3"

TABLA # 5 . ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS DIFERENTES EQUIPOS REACTIVOS.

C/PP = CON PRECIPITADO

S/PP = SIN PRECIPITADO

D.O. = DENSIDAD OPTICA



	Bioxon	Ortho	Simplastin	Thromborel S
REL. DIL/NORMAL				
30%	1.70	2.19	2.22	3.35
10%	2.62	4.64	3.57	6.36

TABLA #6. PANGO TERAPEUTICO DE LOS DIFERENTES EQUIPOS REACTIVOS OBTENIDOS DE LA RELACION DILUCION DEL PLASMA/PLASMA NORMAL

TIEMPO (DÍAS)	Proton	Ortho	Simpleto	Tripletto e l 5
(2 - 8° C)				
T0	11.4"	10.8"	12.7"	11.4"
T1	11.6"	9.6"	12.6"	11.4"
T2	11.2"	9.6"	12.6"	10.4"
T3	12.4"	10.2"	13.5"	11.6"
T4	12.5"	10.4"	13.0"	11.6"
T7	12.7"	10.0"	13.4"	11.6"
T.A.				
T0	11.5"	10.4"	12.5"	11.2"
T1	11.9"	9.3"	12.7"	10.9"
T2	11.9"	9.4"	12.8"	10.5"
T3	13.7"	9.4"	14.5"	11.4"
T4	15.6"	9.7"	16.4"	11.9"
T7	20.2"	9.9"	18.0"	12.2"
27° C				
T0	11.4"	10.4"	12.7"	11.4"
T1	11.7"	9.6"	12.4"	10.9"
T2	12.1"	9.4"	12.6"	10.6"
T3	15.4"	10.6"	16.3"	12.5"
T4	20.0"	10.7"	18.4"	12.9"
T7	25.2"	10.9"	20.2"	13.5"

TABLA # 7. ESTABILIDAD DE LOS DIFERENTES EQUIPOS REACTIVOS A DIFERENTES TEMPERATURAS Y TIEMPOS.  
T.A. = TEMPERATURA AMBIENTE

		FIOXON	ORIG	SIMPLASTIN	THROMBORE S
A 3 DIAS	(2-8°C)	8%	0%	5%	2%
	T.A.	16%	0%	14%	0%
	37°C	26%	2%	22%	9%
A 7 DIAS	(2-8°C)	10%	0%	5%	2%
	T.A.	43%	0%	31%	4%
	37°C	55%	5%	47%	16%

TABLA # 8. PERDIDA DE LA ACTIVIDAD QUE PRESENTAN LOS DIFERENTES EQUIPOS REACTIVOS A DIFERENTES TEMPERATURAS Y TIEMPOS.

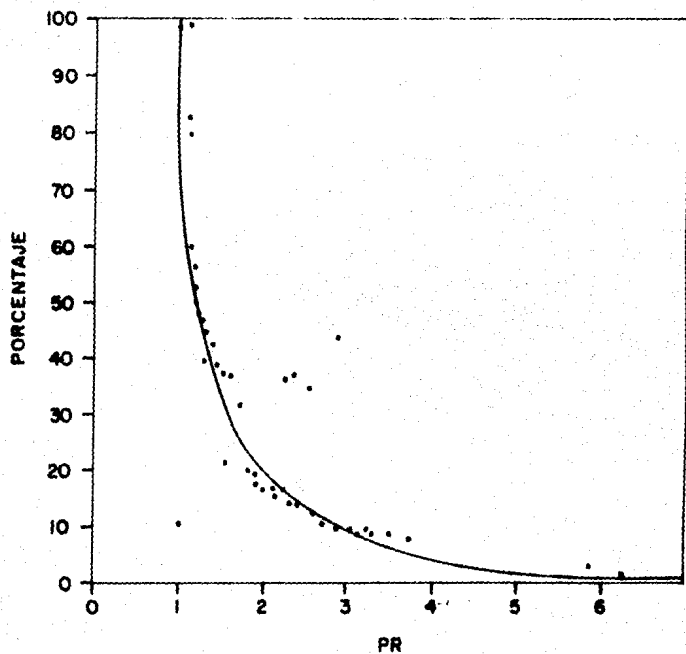


Fig. No. 3

CORRELACION % / PR ( reactivo de bioxon ).

% = Porcentaje de Actividad del Plasma.

PR = Tasa de Protrombina.

$r = -0.73$

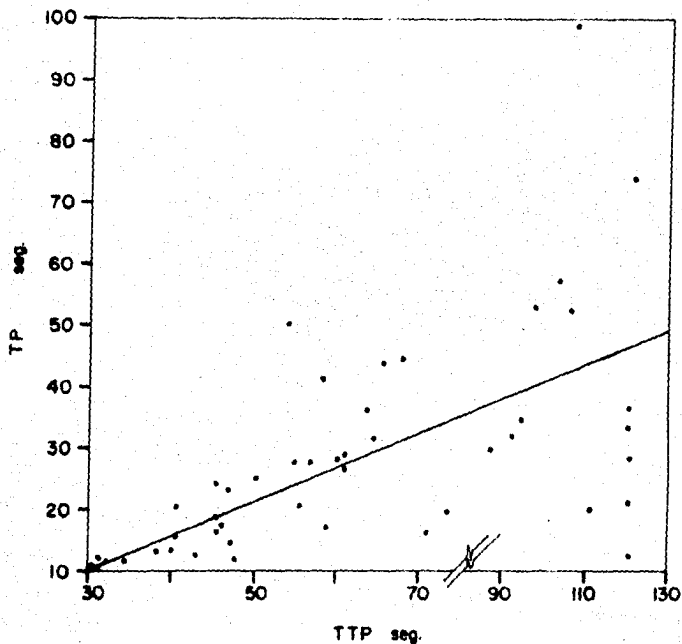


Fig. No. 2

CORRELACION DEL TP/TTP

TP = Tiempo de Protrombina

TTP = Tiempo de Tromboplastina Parcial

$r = 0.38$

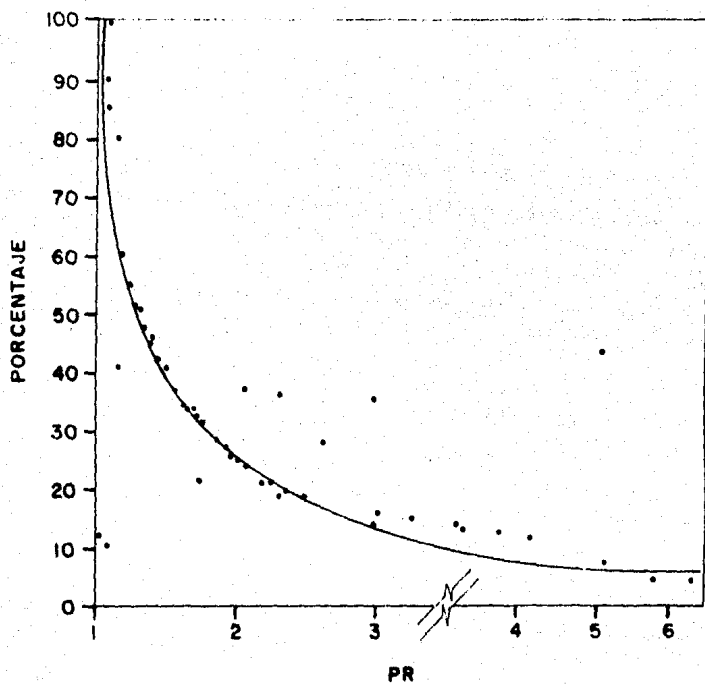


Fig. No. 4

CORRELACION % / PR (reactivo de ortho).

% = Porcentaje de Actividad del Plasma.

PR = Tasa de Protrombino.

 $r = -0.69$

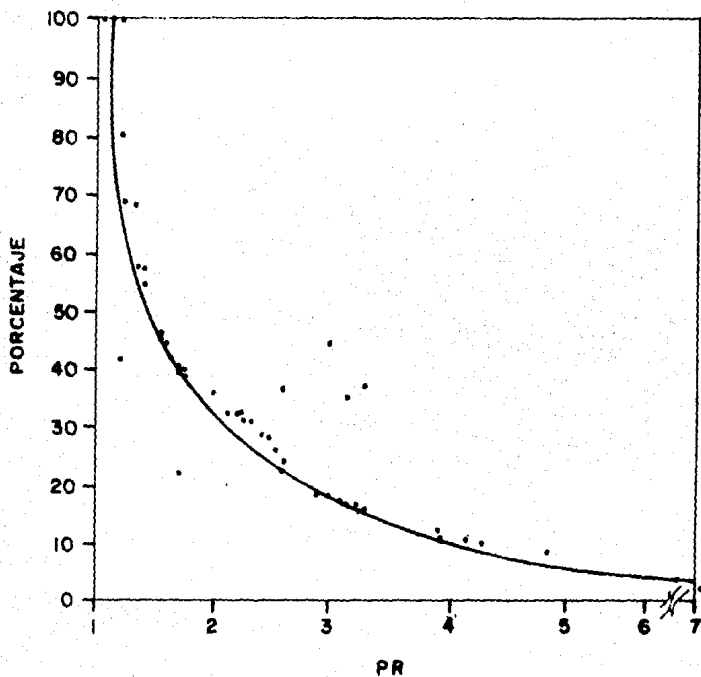


Fig. No. 5

CORRELACION % / PR (reactivo de simplastin).

% = Porcentaje de Actividad de Plasma.

PR = Tasa de Protrombina.

$r = -0.77$

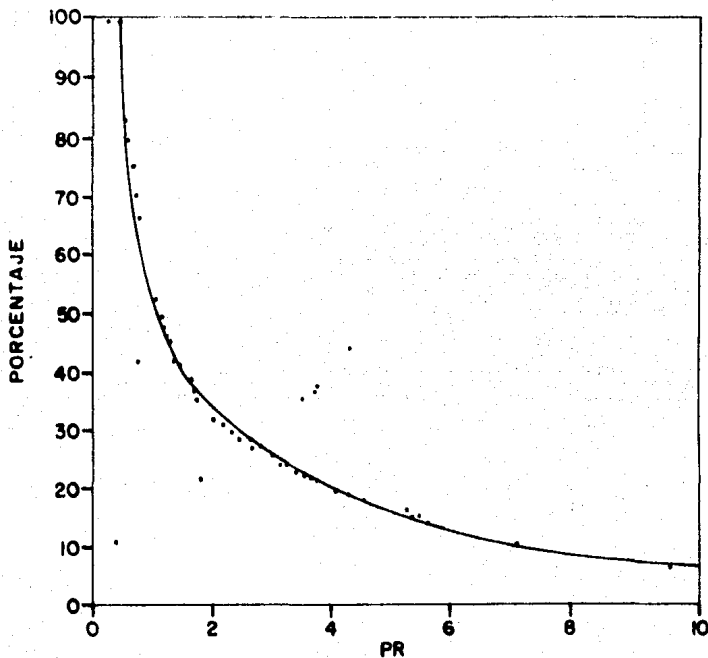


Fig. No. 6

CORRELACION % / PR (reactivo thromborel "S")

% = Porcentaje de Actividad del Plasma.

PR = Tasa de Protrombina.

$r = -0.74$



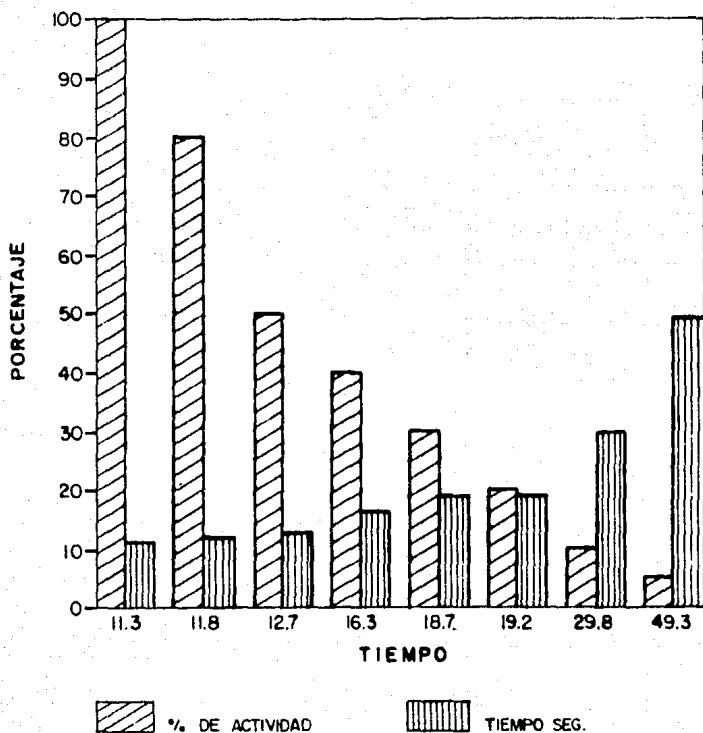


Fig. No. 7  
REACTIVO BIOXON  
Relación del porcentaje de actividad del plasma vs. el tiempo  
en segundos.

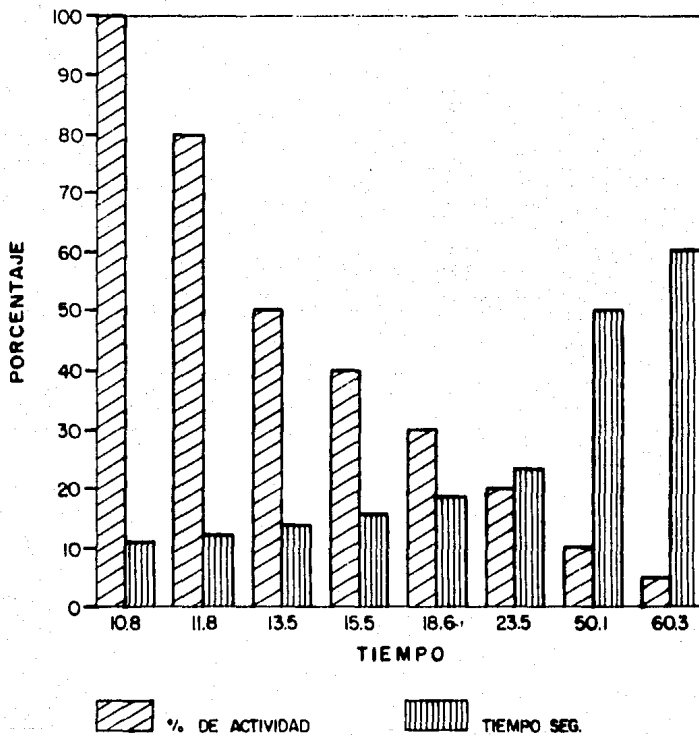


Fig. No. 8

## REACTIVO ORTHO

Relacion del porcentaje de actividad del plasma vs. el tiempo en segundos.

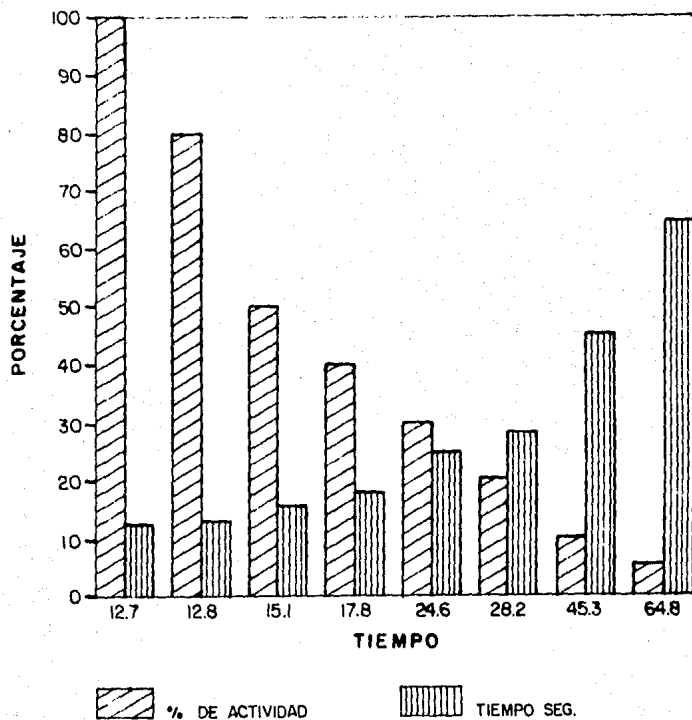


Fig. No. 9

## REACTIVO SIMPLASTIN

Relación del porcentaje de actividad del plasma vs. el tiempo en segundos.

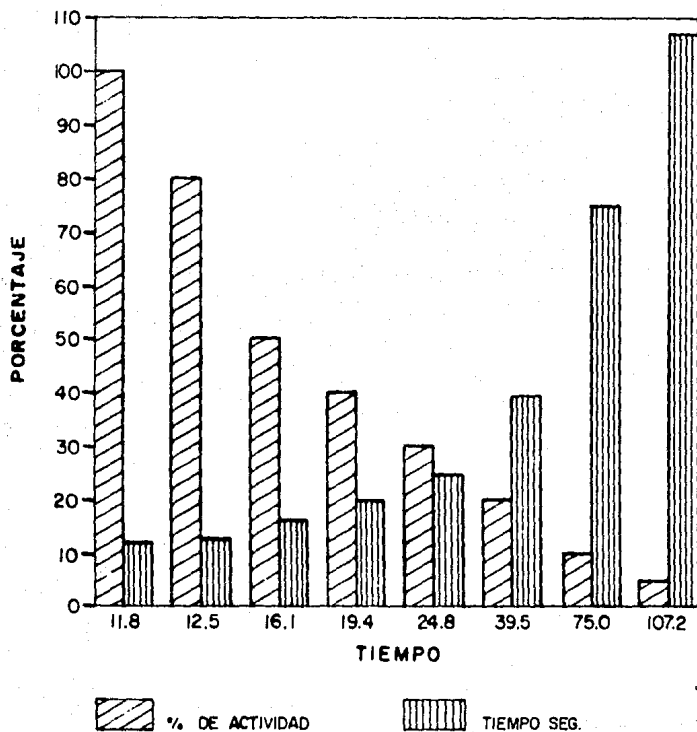


Fig. No. 10

REACTIVO THROMBOREL "S"

Relación del porcentaje de actividad del plasma vs. el tiempo en segundos.

CAPITULO V  
ANALISIS DE RESULTADOS .

SECRETARIA  
DE  
ESTADISTICA  
Y  
CENSOS

Los datos presentados en la Tabla # 1 permiten observar las variaciones en los Tiempos de Protrombina y Tiempos de Tromboplastina Parcial.

La misma tabla muestra algunos valores que caen dentro de los rangos normales (TP= 10-14 seg; TTP= 30-45 seg), lo que hace pensar que en realidad estos pacientes no se encontraban adecuadamente anticoagulados. Esto lleva a la importancia que tiene para el médico el control fidedigno de estos tiempos, ya que de ellos depende la dosis terapéutica.

La tabla # 2 y las figuras de la 7 a la 10, muestran las curvas de actividad de cada reactivo, en las que se puede observar que a medida que va decreciendo la actividad del plasma, aumenta el tiempo de formación del coágulo (tiempo de protrombina). La gráfica más representativa es la de Thromborel S, en la que se puede apreciar una gran diferenciación entre cada punto.

De acuerdo a los datos de la tabla # 3, se puede apreciar a qué % de actividad del plasma se encontraba cada paciente y así mismo la tasa de protrombina. A mayor tasa de protrombina, menor % de actividad del plasma.

Esta relación es muy importante, ya que conociendo la tasa de protrombina normal (1.5 a 2.5, de 10 a 20% si el reactivo es de origen animal; 2.4 a 4.0, de 15 a 27% si el reactivo es de origen humano), se facilita el manejo de la dosis anticoagulante.

te otorgada al paciente.

Basándose en las tablas #4 y #5, se puede establecer que el de mejor Reproducibilidad fué el Thromborel S, ya que presenta una Desviación Estandar de 0.5 a partir de la Media, seguido por Bioxon de 0.9, Ortho de 1.3 y Simplastin de 1.5.

Thromborel S también resultó ser el de mejor Sensibilidad presentando 4.3 segundos de diferencia entre un plasma al 100% y uno al 50%, seguido de Simplastin con 3.4 seg., Ortho con 2.7 seg y Bioxon con sólo 1.4 seg.

Las características de Aspecto, pH y Densidad Optica presentadas también en la tabla #5, servirán para evaluar la estabilidad de cada uno de los equipos reactivos para su uso en el laboratorio.

En la tabla #6 los Rangos Terapéuticos (Tasa de Protrombina de cada uno de los reactivos, muestra una diferencia clara de Thromborel S con el resto. (Valores de referencia: Tasa de 1.5-2.5 y de 10-20% para Ortho, Bioxon y Simplastin; Tasa de 2.4 a 4.0 y de 15-27% para Thromborel S).

Los datos demuestran la importancia que tiene el que cada laboratorio haga la medición de su propia Tasa y sea en ésta donde se apoye el médico para otorgar la dosis anticoagulante.

En las tablas # 7 y # 8 se observa que reactivo de trombo-plastina Ortho, denotó una buena estabilidad, presentando una casi nula pérdida de actividad con el paso de los días.

Las tromboplastinas de Bioxon y Simplastin tienen un comportamiento similar entre sí, mostrando una alta pérdida de actividad sobre todo a temperatura ambiente y a 37 C; no así el Thromborel S, que presentó buena estabilidad y baja pérdida de actividad.

De acuerdo con la figura No.2 se puede observar una menor dispersión de puntos en tiempos de mínima actividad anticoagulante, pero esta presenta una gran dispersión en rangos terapéuticos adecuados.

El coeficiente de correlación ( $r$ ) es de 0.38, lo que aparenta una baja correlación, y apoya la utilización de otros parámetros para la evaluación terapéutica.

Los equipos utilizados para la obtención de éste coeficiente fueron, Ortho (para Tiempo de Protrombina) y Neothromtin (para Tiempo de Tromboplastina Parcial).

Las figuras de la 3 a la 6, muestran la correlación existente entre el % de actividad del plasma y la tasa de protrombina de cada uno de los equipos reactivos.

Los datos obtenidos para la realización de estas gráficas



fueron tomados de la tabla # 3 mostrando los siguientes coeficientes de correlación:

Simplastin  $r = -0.77$

Thromborel S  $r = -0.74$

Bioxon  $r = -0.73$

Ortho  $r = -0.69$

Los coeficientes indican que es Simplastin el que presenta una mejor correlación, pero no se debe tomar éste dato aislado sino evaluar otros parámetros.

CAPITULO VI  
CONCLUSIONES.

## CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos es el Thromborel S el que presenta la más clara diferenciación entre tiempo y actividad del plasma.

Muestra una baja pérdida de actividad y es el de mejor Reproducibilidad (Desviación Estandar = 0.5). Su Sensibilidad es la mayor entre los diferentes equipos reactivos (4.3 segundos), y presenta un Coeficiente de Correlación (r) de -0.74.

El Thromborel S está especialmente indicado para el ajuste y la vigilancia de la terapéutica anticoagulante por vía oral. Su producción y control de calidad están basados en los estándares británicos, que son los que actualmente dictan las especificaciones de las tromboplastinas, por lo que es aconsejable su uso en el laboratorio como reactivo de referencia.

CAPITULO VII  
BIBLIOGRAFIA .

## B I B L I O G R A F I A .

1. Grupo Cooperativo Latinoamericano de Hemostasia y Trombosis. Hemostasia y Trombosis. I.M.S.S. 1981.
2. A. Escribá Polo, M.D. Maluenda Carrillo. Fisiología de la Hemostasia. Medicine (7) 480-500. Abril, 1982.
3. Arthur C. Guyton. Tratado de Fisiología Médica. 5a. edición. México. Editorial Interamericana. 1979.
4. Williams and Williams. Hematology. 3a. edición. U.S.A. Mc
5. Wintrobe. Clinical Hematology. 3a. edición. Philadelphia. Lea Febiger. 1981.
6. Suttie JW, Lehrman SR, Rich DH, Whitton DS: Protrombin biosynthesis: the vit K dependents carboxylase. Thromb. Haemost. 36:51, 1977.
7. Elion JR, Benarous R, Labie D: Isolation and preliminary characterization of a vit K dependent peptides from human prothrombin. Thromb. Haemost 35: 82, 1976.
8. Nemerson J: Biological control of factor VII. Thromb. Haemost. 35: 96, 1976.

10. Kernoff PBA, Mc Nicol GP: Normal and abnormal fibrinolysis. Br. Med Bull 33: 239, 1977.
11. Ogston D: Natural activators of plasminogen in fibrinolysis. p.i. ed Graifney. U.S.A. Atad Press. 1978.
12. Hougie C, Baugh RF: Currente views on blood congluation and haemostatic mechanism. En Blood Coagulation and Haemostasis. p. 1. E.J.H. Thomson 1980.
13. Collen D, Semerano N, Telesforo P, Verstraete M: Inhibition of plasmin by antitrombin-Heparin complex: II During thrombotic therapy in man. Br. J. Haemat. 39: 101, 1978.
14. ICSH/ICTH Recomendations for reporting Prothrombin time in oral anticoagulant control. Acta Haemt. 72: 405-407, 1984.
15. Mialle J.B, Kent J.W. Standardization of the therapeutic range for oral anticoagulants based on standard reference plasmas. Am. J. Clin. Pathol. 57: 80-83, 1972.
16. Forfar J.C. Prediction of haemorrhage during long term oral coumarin anticoagulation by excessive prothromtin ratio. Am. Heart. 104: 446-456, 1982.

17. Leon Poller. Therapeutic ranges in anticoagulant administration. *British Medical Journal*. June 1985; 20: 1683-1686.
18. Hermans J, Van Den Besselaar AMHP, Loeliger EA. A collaborative calibration study of reference materials for thromboplastins. *Thromb Haemostas*. 50: 717-719, 1983.
19. Biggs R, Denson XUE. Standardization of the one-stage prothrombin time for the control of anticoagulant therapy. *British Me. J.* 1: 84-88, 1967.
20. Loelinger EA Lewis SM. Progress in laboratory control of oral anticoagulants. *Lancet* ii 318-320, 1982.
21. Bangham Dr. Biggs, R. Brochure. Calibration of five different thromboplastins using fresh and freeze-dried plasma. *Thrombosis, Diathes. Haemorrh.* 29: 228-239, 1973.
22. Bradlow BA. Oral anticoagulant in the 80's. A reassessment of indications, dosage and laboratory control. *S. Afr. Medical Journal*. 64(9); 373-376, Aug. 27, 1983.
24. Besselaar AMHP, Loeliger, E.A. et. al. Stability of international reference thromboplastins. *Br. J. Haematol.* 45; 153-160, 1980.