



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA DE
NICARAGUA,
MANAGUA
UNAN-MANAGUA

TESIS DE GRADO

Características clínicas y epidemiológicas en pacientes con Hemofilia realizado
en el segundo semestre del 2024.

Bermúdez, N; Saballo, H; Castro, S.

Tutor

Dr. Yuber Ariel Lazo Guerrero

ÁREA DE CONOCIMIENTO: CIENCIA TECNOLOGIA Y SALUD

¡Universidad del Pueblo y para el Pueblo!



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA DE
NICARAGUA,
MANAGUA
UNAN-MANAGUA

Área de Conocimiento
Ciencias Tecnológicas Y Salud

Recinto Universitario “Cornelio Silva Argüello”

**Características clínicas y epidemiológicas en pacientes con
Hemofilia realizado durante en el segundo semestre del 2024.**

Tesis para optar al grado de Licenciatura en Bioanálisis Clínico

Autores

Br, Nardell Yorvania Bermúdez Gutiérrez

Br, Humberto Danilo Calero Saballo

Br, Sherlyng María Castro Martínez

Tutor

Dr. Yuber Ariel Lazo Guerrero

Diciembre, 2024



Índice

Título del Tema.....	8
Subtema.....	8
Dedicatoria.....	9
Agradecimiento	10
Valoración del Docente	11
Resumen.....	12
I. Introducción	1
III. Objetivos	5
3.1. Objetivo general	5
IV. Desarrollo.....	6
4.1. Trastornos de coagulación	6
4.1.1. <i>Enfermedad de Von Willebrand</i>	6
4.1.2. <i>Hemofilia</i>	7
4.1.3. <i>Otros trastornos</i>	8
4.2. Cascada de la Coagulación	8
4.2.1. <i>Factores de Coagulación</i>	9
4.2.2. <i>Vía extrínseca</i>	10
4.2.3. <i>Vía intrínseca</i>	10
4.2.4. <i>Vía común</i>	11
4.2.5. <i>Factor VIII</i>	11
4.2.6. <i>Factor IX</i>	12
4.2.7. <i>Factor XI</i>	12
4.3. Hemofilia	13
4.3.1. <i>Hemofilia A</i>	14

4.3.2.	Hemofilia B	14
4.3.3.	<i>Hemofilia C</i>	15
4.3.4.	<i>Hemofilias adquiridas</i>	15
4.3.5.	<i>Manifestaciones clínicas</i>	16
4.3.6.	<i>Herencia</i>	17
4.3.7.	<i>Diagnostico</i>	18
4.3.8.	<i>Epidemiología</i>	20
4.3.9.	<i>Tratamiento</i>	20
4.4.	Rol del laboratorio	23
4.4.1.	<i>Recuento de plaqueta</i>	23
4.4.1.1.	Materiales/equipamiento	23
4.4.1.2.	Método	24
4.4.2.	<i>Tiempo de Protrombina (PT)</i>	25
4.4.2.1.	Principio.	25
4.4.2.2.	Procedimiento.	25
4.4.3.	<i>Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (APTT)</i>	25
4.4.3.1.	Principio.	25
4.4.3.2.	Procedimiento.	26
4.4.4.	<i>Fibrinógeno</i>	26
4.4.4.1.	Principio.	26
4.4.4.2.	Procedimiento técnico.	27
4.4.5.	<i>Preparación de plasma fresco congelado</i>	27
4.4.5.1.	Materiales y Reactivos.	27
4.4.5.2.	Equipos.	27
4.4.5.3.	Procedimiento.	28

4.4.6. Preparación de FAH crioprecipitado	28
4.4.6.1. Materiales.....	28
4.4.6.2. Equipo.	28
4.4.6.3. Procedimiento.	29
4.4.7. Preparación de plaquetas a partir de sangre entera	30
4.4.7.1. Materiales y Reactivos	30
4.4.7.2. Equipos.....	30
4.4.7.3. Procedimiento.	30
4.4.8. Resuspensión de plaquetas	31
4.4.8.1. Materiales y equipo.	31
4.4.8.2. Procedimiento.	31
4.4.9. Ensayos de factor basados en el tiempo de protrombina (factores II, V, VII o X)	32
4.4.9.1. Reactivos	32
4.4.9.2. Método.....	33
3.4.10. Ensayos de factor basados en el TTPA (ensayo de una etapa de los factores VIII:C, IX, XI o XII).....	34
3.4.10.1. Reactivos	34
3.4.10.2. Método	35
3.4.10.3. Resultados.....	36
3.4.11. Prueba de rastreo del factor XIII	36
3.4.11.1. Materiales y reactivos	37
3.4.11.2. Método.....	37
3.4.12. Ensayo del antígeno del factor von Willebrand (FvW:Ag) por método ELISA	37
3.4.12.1. Materiales y reactivos	38

3.4.12.2. Método	38
VI. Bibliografía	41
VII. Anexos	44
Anexo A	44

Título del Tema

Trastornos de los factores de coagulación.

Subtema

Características clínicas y epidemiológicas en pacientes con Hemofilia realizado durante el segundo semestre del 2024

Dedicatoria

A nuestros padres, Humberto Calero, Ernesto Castro y Douglas Bermúdez, quienes, con su ejemplo, fortaleza y empeño, nos inculcaron principios fundamentales de dedicación y superación. Gracias a ellos, hemos aprendido a desenvolvemos y desarrollarnos en nuestro entorno, aspirando siempre a ser personas integrales.

A nuestras madres, Rosa Gutiérrez, Odalys Saballo y Amparo Martínez, quienes, con su ejemplo, dedicación y esmero, junto a nuestros padres, han tenido la paciencia y el celo necesario para inculcarnos principios esenciales de dedicación, cuidado y progreso, ayudándonos a desarrollarnos como seres humanos integrales.

Agradecimiento

A Dios; por ser nuestro sustentador y proveedor, que nos ha respaldado en cada paso de la investigación, porque ha mostrado su gracia y misericordia.

A nuestros familiares; por el apoyo incondicional tanto en lo económico, como en lo emocional, brindándonos palabras de motivación para no desistir en cada uno de los pasos que dábamos para llevar a cabo nuestro trabajo.

A nuestro tutor, Doc. Yuber Ariel Lazo Guerrero, por la confianza, el apoyo, dedicación y entrega demostrada durante la tutoría de esta tesis.

Valoración del Docente

Dr. Yuber Ariel Lazo Guerrero, tutor de la investigación hace constar que el trabajo titulado **“Características clínicas y epidemiológicas en pacientes con Hemofilia realizado durante el periodo del segundo semestre del 2024”** desarrollada por los bachilleres:

Br, Humberto Danilo Calero Saballo

Br, Nardell Yorvania Bermúdez Gutiérrez

Br, Sherlyng María Castro Martínez

En el marco de la modalidad de graduación que establece la normativa de la UNAN Managua Seminario para la Carrera de Bioanálisis Clínico de la UNAN CUR Chontales, ha sido realizada en el tiempo estipulado bajo mi tutela.

A lo largo del periodo de investigación, hemos mantenido comunicación periódica, consensuando contenido y líneas de investigación, por lo que ante mi opinión el trabajo presentado reúne las condiciones exigibles a una investigación científica de recopilación de información y está en condiciones de ser sometida a la valoración del tribunal encargado de hacer su valoración según criterios establecidos por la UNAN Managua.

Sin otro particular, me despido.

Atentamente:



Resumen

La hemofilia es un trastorno hemorrágico congénito ligado al cromosoma X, caracterizado por una deficiencia en los factores de coagulación VIII (hemofilia A) o IX (hemofilia B). Esta deficiencia resulta de mutaciones en los genes correspondientes de los factores de coagulación. La enfermedad se presenta predominantemente en individuos masculinos, aunque las mujeres pueden ser portadoras asintomáticas o presentar síntomas hemorrágicos en menor grado.

Se hizo un análisis exhaustivo de la información por lo que su enfoque es documental y su finalidad fue en las características clínicas y epidemiológicas de la hemofilia debido a su importancia global. El objetivo es explicar las características clínicas y epidemiológicas en personas con Hemofilia

Las hemofilias A y B presentan síntomas similares, como moretones y hemorragias musculares y articulares, mientras que la hemofilia C no presenta hemorragias articulares y afecta a ambos sexos. A nivel mundial, la hemofilia afecta a más de 250,000 personas. En Nicaragua, en 2020, se registraron 484 casos de trastornos hemorrágicos, destacando la hemofilia A. El laboratorio es esencial para su diagnóstico y tratamiento adecuado, mejorando así la esperanza de vida de los pacientes.

Palabras claves: Característica clínica, epidemiología, factores de coagulación, hemofilia, mutaciones.

I. Introducción del tema y subtema

Los trastornos de la coagulación se producen cuando el organismo es incapaz de producir cantidades suficientes de las proteínas que se necesitan para facilitar la coagulación de la sangre y la detención de la hemorragia. Estas proteínas se llaman factores de coagulación, además, los trastornos de la coagulación también aparecen ocasionalmente por sí solos (de forma espontánea). (Streiff, 2023, párr. 3).

La hemofilia es una enfermedad devastadora de origen genético, recesiva y ligada al cromosoma X, en el cual se encuentran los genes que codifican los factores hemostáticos VIII y IX. Algunas mutaciones específicas de estos genes condicionan la aparición de la hemofilia A (HA) o B (HB). (García & Majluf, 2013, p. 308).

La falta de un factor de coagulación ocasiona que los pacientes con hemofilia padezcan de hemorragias más prolongadas que aquellas personas que tienen factores de coagulación con niveles normales o que funcionan adecuadamente. El problema principal son las hemorragias internas, principalmente en músculos y articulaciones. (Dávila, 2007, p. 1).

La hemofilia afecta a más de 250 mil personas en 120 países en todo el mundo. Las incidencias típicamente reportadas son: El tipo más común de hemofilia se llama hemofilia A, estas personas no tienen suficiente factor de coagulación VIII (ocho). Aproximadamente 31 de cada 100,000 varones tienen hemofilia A y 4 de cada 100,000 varones tienen hemofilia B. El resultado para estas personas con este trastorno es el mismo; es decir, sangran durante un tiempo mayor al normal. (Federación Mundial de la Hemofilia, 2020, p. 14).

En Nicaragua, la federación mundial de la hemofilia en el año 2020 realizó un sondeo en el que se registran 484 casos de trastornos hemorrágicos, de los cuales 274 pacientes presentan hemofilia A con un 56.6%, de igual manera, 28 (5.8%) pacientes hemofilia B y el 37.6% restante refiere a otros trastornos de la coagulación.

El trabajo investigativo tiene como finalidad aportar nuevos conocimientos debido a la escasez de estudios relacionados con este trastorno de coagulación., por lo tanto, es de gran

importancia realizar este estudio para identificar las características clínicas y epidemiológicas de las personas con hemofilia.

Otros estudios relacionados a la temática son:

En Arequipa, Perú. Se realizó un estudio con el objetivo de caracterizar el perfil clínico epidemiológico de la hemofilia en pacientes atendidos en el Hospital de Salud de nivel III de atención en Trujillo, en el periodo 2008 al 2018. La presente investigación de enfoque cuantitativo, diseño no experimental tuvo como recopilación de datos la revisión de las historias clínicas de 30 pacientes con hemofilia.

Predomina la hemofilia A con 26 pacientes (86.7%). Equimosis (26.7%) proseguida por hemartrosis (23.3%), sin embargo, el 20% no presenta manifestaciones. La localización más frecuente es el sangrado en las articulaciones. (Sánchez & Rodríguez, 2019, p. 47)

En Chinandega, Nicaragua. Se realizó un estudio con el objetivo de determinar las manifestaciones clínicas y radiológicas encontradas en pacientes con artropatía hemofílica atendidos en consulta externa del Hospital España. El estudio fue Observacional, descriptivo, retrospectivo, la información se obtuvo mediante el expediente clínico. Los datos recopilados se procesaron en el Programa IBM SPSS.

El 52% de los pacientes pertenecían a la zona rural, 73.9% eran solteros, el grupo etario más frecuente fue 21- 40 años con un 47.8%, el nivel de escolaridad primaria fue el más frecuente 47.8%. La hemofilia A comprendió la mayoría de los casos 69,6%. La articulación más afectada fue rodilla en el 60.9% de los casos, codo en un 26.1%, cadera 13% y tobillo en un 4.3%. (Peralta et al., 2022, p. 3)

En Managua, Nicaragua. se efectuó un estudio que tenía como objetivo identificar las características clínicas sobrevida de las personas con hemofilia atendidos en el Centro Nacional de Sangre de Nicaragua, del 2000 al 2006. El diseño es una serie de casos, descriptivo con una muestra seleccionada por conveniencia con 176 casos en total.

Los efectos relacionados a la terapia de reemplazo con componentes sanguíneos de mayor frecuencia fueron: hepatitis C 40.9%, sífilis 4.1%, chagas 4.1%, HIV 2.3%, hepatitis B 1.8%, aparición de inhibidores 4.1% y reacciones transfusionales 12.9%. En el período de estudio fallecieron 8 personas menores de 33 años de edad. La mortalidad proporcional fue de 4.5% y la sobrevida fue alta, al parecer la alta sobrevida se relaciona con la atención, control y tratamiento apropiado y oportuno. Los riesgos que frecuentemente presentaron fueron lesiones/traumas 66.1%, heridas 38.6%, golpes 26.9% y caídas 26.3%. (Dávila, 2007, p. 4)

En Managua, Nicaragua, se realizó un estudio que tenía como objetivo determinar las características clínico y epidemiológicas de los pacientes hemofílicos que asisten al Banco Nacional de Sangre (Managua) en el período comprendido entre el año 2016 - 2018. La investigación fue descriptiva, tipo cuantitativo, retrospectiva de corte transversal. Para la obtención de la información se realizó una ficha de recolección de datos para la revisión de los expedientes clínicos. El procesamiento de los datos se realizó en el programa SPSS, utilizando frecuencia y porcentajes para un debido análisis estadístico de la información obtenida.

Según los resultados obtenidos el 52.7 % de la población está comprendida por los pacientes de 0-9 años de edad, el departamento con mayores casos de hemofilia es Managua con un 36.3 %, el tipo de hemofilia con mayor predominio es el tipo A con un 86.8 % y teniendo un grado de severidad grave con un 57.1 % de la población estudiada. (Miranda et al., 2019, p. 7)

II. Justificación

La hemofilia es un trastorno hemorrágico hereditario que se caracteriza por un déficit de alguno de los factores de la coagulación. En función del factor deficitario hay dos tipos de hemofilia: hemofilia A (carencia del factor VIII o FVIII) y hemofilia B (déficit de factor IX o FIX). El fenotipo de sangrados depende del porcentaje circulante del factor deficitario en plasma. De esta manera, nos encontramos tres tipos de hemofilia según este criterio: hemofilia severa (<1 %), moderada (1-5 %) y leve (5-40 %) de FVIII/FIX. (Martínez, 2022, p.4)

Se llevo a cabo esta investigación sobre las características clínicas y epidemiológicas de la hemofilia debido a su notable relevancia clínica a nivel mundial y nacional., Abordar estos aspectos es crucial para una mejor comprensión de la enfermedad. El objetivo de este estudio es detallar las características clínicas y epidemiológicas en personas con hemofilia, lo que facilitará el conocimiento del comportamiento de la enfermedad e influirá positivamente en el diagnóstico de la hemofilia.

Es oportuno recalcar que, la finalidad del estudio sobre la hemofilia no solo se limita examinar las manifestaciones clínicas y epidemiológica, sino también busca enriquecer el conocimiento global sobre esta condición y sus implicaciones para la salud y el bienestar de los pacientes. Este estudio es esencial para identificar la característica específicas en diferente contexto lo que puede llevar a la mejora del diagnóstico y tratamiento de la enfermedad.

III. Objetivos

3.1.Objetivo general

Explicar las características clínicas y epidemiológicas en pacientes con Hemofilia realizado en el segundo semestre del 2024.

Objetivo específico

1. Detallar las manifestaciones clínicas y factores de coagulación asociada a la Hemofilia
2. Describir las principales características epidemiológicas en pacientes con Hemofilia.
3. Indicar el rol del laboratorio clínico en el diagnóstico de la hemofilia.

IV. Desarrollo del Subtema.

4.1.Trastornos de coagulación

Los trastornos de coagulación son importantes porque pueden causar hemorragias graves o la formación de coágulos peligrosos.

El sistema de coagulación mantiene la sangre en estado fluido en todo momento y, por tanto, está incesantemente activa durante toda la vida. Sin embargo, en el momento en que ocurre una lesión del sistema vascular, el sistema de coagulación inmediatamente gira 180° y transforma la sangre en un cuerpo sólido perfectamente localizado, al que llamamos coágulo. Este proceso, mediante el cual se forma un coágulo, se conoce como hemostasia, que es uno de los componentes del sistema de coagulación. (Hernandez & Cabrales, 2024, p. 7)

Los trastornos de coagulación se producen cuando el organismo es incapaz de producir cantidades insuficiente de las proteínas esto significa que no funciona como deberían, los problemas de coagulación pueden ocurrir por otras enfermedades hepáticas severas o falta de vitamina K.

4.1.1. *Enfermedad de Von Willebrand*

Es un trastorno hemorrágico bastante común, lo cual significa que la sangre no coagula como debería, lo que resulta en un defecto en la función plaquetaria.

La deficiencia del factor de Von Willebrand (FvW) es un desorden principalmente autosómico dominante, causado por una disminución o defecto estructural del factor, lo cual conlleva: a un defecto funcional plaquetario, ya que no se promueve la adhesión plaquetaria al colágeno, y a una disminución en los niveles del factor VIII en circulación, ya el FvW se encarga de su protección. El principal problema que se desarrolla está sobre su efecto a nivel de plaquetas y esto se manifiesta con sangrados a nivel de mucosas. (Boza, 2016, p. 163)

Esto indica que no solo se dificulta la formación de coágulos, sino también provoca la reducción del factor VIII. Además, las personas con esta deficiencia podrían experimentar sagrados frecuentes, principalmente en la mucosa como la nariz o la boca.

En el diagnóstico de la enfermedad, se sugiere evaluaciones clínicas y examen físico, además, de pruebas de laboratorios que permitan medir el complejo FVIII-FvW.

Esta enfermedad es más frecuente que la hemofilia A y afecta de igual manera a hombres y mujeres, siendo común el observar menorrea. Dentro de los hallazgos de laboratorio se observa la actividad del factor VIII disminuida o normal y esto, junto a la clínica, debe llevar al estudio cualitativo y cuantitativo del FvW. Este se puede determinar utilizando técnicas inmunológicas como el 1g FvW a través de la formación de un complejo Factor VIII-FvW. (Boza, 2016, p. 163).

4.1.2. Hemofilia

La hemofilia es considerada un trastorno poco común que se manifiesta por la deficiencia en los factores de coagulación en la sangre, dificultando la formación de coágulos provocando hemorragias prolongadas. Según Boza (2016):

La hemofilia es un desorden hemorrágico Hereditario y congénito originario por mutaciones en el cromosoma X caracterizado por la disminución o ausencia de la actividad funcional de los factores VIII o IX la hemofilia afecta a los individuos varones de lado materno y en 1/3 de los casos surge como consecuencia de mutaciones espontáneas sin antecedentes familiar la frecuencia de hemofilia A surge como deficiencia del factor VIII es de aproximadamente 1 de cada 5000 a 10000 nacimientos de varón y la de la hemofilia B es de eficiencia el factor 9 es de 1 cada 30000 a 50000 nacimientos. (p. 163)

Esto indica que las personas que padecen hemofilia son aquellas que por origen genético hereditario o congénitos de la madre ocasiona un desequilibrio del factor VIII como IX en los pacientes. El grado de deficiencia del factor determina la probabilidad y la gravedad de la hemorragia.

4.1.3. Otros trastornos

Podemos decir, que en la enfermedad hemofilia hay otros factores que afectan además del factor VIII y IV.

De este grupo, la más común es la deficiencia del factor XIII en la cual hay problemas en el proceso de cicatrización de heridas, formación de queloides, riesgo de abortos espontáneos y hematomas. Para su diagnóstico se requiere la cuantificación de este factor y el tratamiento del mismo consiste en proporcionar concentrados del factor correspondiente. (Boza, 2016, p. 164)

Teniendo en cuenta la deficiencia de este factor provoca una tendencia hemorrágica anormal de factor XIII, la cual la sangre no funcione correctamente.

- En la deficiencia de protrombina o factor II se presentan dos fenotipos: una hipoprotrombinemia con bajos niveles en su actividad y cantidad, y una disprotrombinemia caracterizada por una síntesis normal de la proteína, pero disfuncional.
- La deficiencia del factor VII es un desorden autosómico recesivo, donde tanto la actividad como el antígeno se encuentran disminuidos.
- Las deficiencias de fibrinógeno de tipo congénito y las disfibrinogenemias son raras; estas últimas, por lo general, se consideran como trastornos adquiridos. (Boza, 2016, p. 164).

4.2. Cascada de la Coagulación

La cascada de coagulación es considerada un proceso crucial para la salud, debido a que permite al cuerpo detener el sangrado y evitar riesgos.

La cascada de la coagulación involucra una serie de enzimas, cofactores e inhibidores que mantienen un equilibrio para la formación normal de fibrina. Se le da el nombre de cascada, ya que el zimógeno de una reacción, al ser activado, funciona como enzima activadora del siguiente zimógeno. Un zimógeno es una proenzima o forma inactiva de una enzima, que debe activarse mediante distintos mecanismos para poder catalizar una

reacción bioquímica. Estas reacciones ocurren únicamente en membranas activadas de plaquetas, leucocitos o células musculares expuestas a la lesión, lo que limita la hemostasia al sitio dañado. (Boza, 2016, p. 149)

En este sentido, también desempeña un papel en el diagnóstico y tratamiento de diversos trastornos, además, de que permite mantener el equilibrio del sistema circulatorio.

El tiempo de protombina (TP) y el tiempo de tromboplastina parcial (TTP, aTTP) evalúan los factores de la coagulación que forman parte de las distintas vías de la cascada de la coagulación. Estas vías reciben el nombre de vía intrínseca, extrínseca y común. (Romero, 2021, Párr. 3).

- El TTP se utiliza para evaluar los factores de coagulación XII, XI, IX, VIII, X, V, II (protrombina) y el factor I (fibrinógeno), así como también la precalicreína (PK) y cininógeno de alto peso molecular (HK).
- Una prueba de TP evalúa los factores de coagulación VII, X, V, II e I (fibrinógeno)

4.2.1. Factores de Coagulación

Los factores de coagulación juegan un papel importante en el proceso de coagulación, previniendo así el sangrado excesivo.

En los factores de la coagulación, los factores VIII y IX son codificados en el cromosoma X, de ahí que las deficiencias se manifiestan con patrones de herencia ligadas al sexo. El fibrinógeno (factor 1) está codificado a nivel del cromosoma 4, y el mecanismo de herencia es autosómico dominante. El resto de los factores son de herencia autosómica recesiva. Todos son sintetizados en el hígado. No existe el factor VI. (Boltón , 2004, p. 149)

La formación de fibrina puede llevarse a cabo por dos vías enzimáticas: la intrínseca y la extrínseca, las cuales convergen en una vía común. Esta división se aplica bien a los procesos in vitro, mientras que con los fenómenos in vivo es más complejo.

4.2.2. Vía extrínseca

Es una de las dos rutas iniciales en el proceso de coagulación sanguínea y es conocida por su rápida activación.

En esta vía, llamada también fase de iniciación, el factor tisular (FT) desempeña el papel principal, el cual, al ser liberado como consecuencia de daño tisular, forma un complejo con el FVII. Este complejo FT-FVIIa, en presencia de calcio, activa al FX (denotado como FXa). (Boza, 2016, p. 151).

De otro modo, podemos decir que esta vía es la activación cuando la sangre entra en contacto con un factor tisular de las membranas tras un daño vascular.

4.2.3. Vía intrínseca

La vía intrínseca es crucial debido a que forma parte de la cascada de coagulación, siendo este un mecanismo esencial para detener el sangrado y facilitar la sanación del cuerpo.

Se inicia in vitro al contacto con proteínas extrañas al vaso sanguíneo. Como ya se mencionó, la precalicreína (FXV) actúa de cofactor para la autoactivación del FXII. El factor XII activado (FXIIa), activa al FXI en presencia del FXIV o HMWK (quininógeno de alto peso molecular, por sus siglas en inglés), el cual actúa como cofactor. El factor XI activado (FXIa) en presencia de calcio, activa al FIX, el cual, en presencia de calcio, fosfolípidos y FVIIIa (cofactor), convierte al FX en FXa. El complejo FT-FVIIa, también puede convertir FIX en FIXa (acción resaltada con una flecha verde gruesa. (Boza, 2016, p. 151)

La activación de la vía intrínseca es fundamental para la formación de coágulos, en donde, este proceso, que requiere varios cofactores, finaliza con la activación del factor X en FXa, siendo importante para la cascada de coagulación.

4.2.4. Vía común

Esta vía es la etapa final donde convergen tanto la vía intrínseca como la vía extrínseca que dan como resultado a la formación de coagulo de fibrina.

EIFX es activado (FXa) por ambas vías: en la vía intrínseca a través del complejo FIXa FVIIIa-calcio y fosfolípidos y en la vía extrínseca el complejo FT-FVIIa-calcio. Una vez activado el factor X, este convierte protrombina (FII) en trombina a través de su unión con el complejo FVa-calcio y fosfolípidos. La trombina a su vez convierte fibrinógeno (FI) en fibrina y activa al FXIII, lo cual da estabilidad a la fibrina formada. (Boza, 2016, p. 151)

De esta manera el factor X (FXa) se activa a través de las vías intrínseca y extrínseca mediante complejos que incluyen calcio y fosfolípido, estabilizando así el coágulo, siendo este un proceso esencial para lograr una coagulación eficaz y el mantenimiento del sistema hemostático.

El FXIIIa tiene la función de estabilizar la malla de fibrina soluble, gracias a la formación de puentes entre los monómeros de fibrina. De esta manera se forma un coágulo de fibrina insoluble, el cual no es lizado rápidamente. Todo esto en presencia de calcio. Por esta razón, la acción del FXIIIa sobre la fibrina es señalada con triple flecha. Si un paciente tiene deficiencia de FXIII, formará el coágulo de fibrina ante una lesión, pero este coágulo no será estable y el sitio del trauma sangrará cierto tiempo después. (Boza, 2016, p. 152)

De este modo, la activación del factor FXa es un paso clave en la coagulación, ya que convierte la protrombina en trombina, permitiendo la formación de fibrina y la activación del factor XIII, siendo este un proceso fundamental para asegurar una coagulación efectiva manteniendo la integridad del sistema hemostático.

4.2.5. Factor VIII

Al ser vulnerable a la degradación, siempre se encuentra unida al factor de Von Willebrand (FvW), que lo protege de esta.

El factor VIII es una proteína lábil, susceptible de degradación proteolítica, por tal motivo siempre va unido al factor de Von Willebrand, el cual le ofrece resistencia a la degradación proteolítica durante su forma inactiva; cuando el factor VIII se activa, se separa del factor Von Willebrand y se convierte en blanco de otros factores de coagulación tales como los factores Xa y IXa, proteína C activada y trombina. (Amador & Vargas, 2013, p. 638)

En este sentido, el factor VIII desempeña un papel crucial en el proceso de coagulación sanguínea, pero su fragilidad lo hace dependiente del factor de FvW.

El factor VIII es indispensable para la activación del complejo tenaza por parte de la vía intrínseca de la cascada de coagulación, así como también en el modelo celular de la coagulación, ya que el factor VIII tiene una participación muy importante en la fase de propagación. Esto explica por qué un paciente con hemofilia A es incapaz de producir cantidades suficientes del factor X a que puedan sobrepasar la vía del inhibidor del factor tisular y la hemorragia es inevitable. (Amador & Vargas, 2013, p. 638)

Esto explica por qué un paciente con hemofilia A es incapaz de producir suficientes cantidades del factor X para superar la vía del inhibidor del factor tisular, lo que lleva a que la hemorragia sea inevitable.

4.2.6. Factor IX

La deficiencia de factor IX de la coagulación se conoce como hemofilia tipo B y se encuentra ligada al cromosoma sexual X. Según Guzmán & Temenuska (2013), “Este tipo B es el resultado de la incapacidad del cuerpo para producir suficiente factor rasgo hereditario recesivo ligado al cromosoma X” (pp. 79-84). Siendo las mujeres portadoras de la enfermedad y los hombres padecen los rigores de la severidad.

4.2.7. Factor XI

El factor XI (FXI) es controlado por genes autosómicos. La deficiencia severa tiene su origen en mutaciones genéticas homocigóticas o doblemente heterocigóticas. En los casos de deficiencia de FXI, el APIR es prolongado y el tiempo de protrombina es normal.

La deficiencia del factor XI provoca un trastorno de hemorrágico el cual es caracterizado por una disminución en actividad o el nivel del factor.

Las personas con deficiencias severas o moderadamente severas padecen hemorragias causadas por trauma o intervenciones quirúrgicas, al igual que los pacientes con hemofilia A ó B, leve o moderada. Algunos pacientes con deficiencia no presentan hemorragias excesivas. La decisión de tratar a un paciente con productos plasmáticos antes de una cirugía depende de su propia historia de hemorragias anteriores y de la de los miembros de su familia.

“Los heterocigotas tienen deficiencias leves, por ejemplo, niveles de FXI del 25 al 50% y por lo general son asintomáticos. El gen predomina particularmente entre personas de ascendencia judío-europea y la frecuencia varía dependiendo de los diferentes países” (Kasper, 2008, p. 6). En este sentido se comprende que las personas con hemofilia que padece disminución del factor XI pueden presentar hemorragia tanto leve, moderada o grave.

4.3.Hemofilia

En las Hemofilias se produce sangrado anormal debido a la producción limitada o ausente de los factores de la coagulación VIII o IX. Cuando se afecta la síntesis del Factor VIII el trastorno es la Hemofilia A y cuando la limitación o faltade producción es el Factor IX, se denomina Hemofilia B. Tanto la hemofilia A como la B, se definen como severa, moderada o leve de acuerdo con el nivel del factor. Los sujetos con la forma severa son los que poseen menos del 1% del factor, presentando manifestaciones hemorrágicas espontáneas especialmente hemartrosis recurrente.

Las Hemofilias son trastornos congénitos de la coagulación con herencia recesiva ligada al cromosoma X. Si bien son entidades poco frecuentes, ya que afectan cada 10,000 sujetos varones de la población, como se describen en todas las razas y niveles sociales, son importantes por sus consecuencias en el sujeto afectado, su familia y la comunidad a la que pertenecen. (Nieves et al., 2005, p. 1)

Resulta claro que las hemofilias afectan la coagulación sanguínea y son heredadas a través del cromosoma X, aunque resultan poco frecuentes, su gravedad puede tener un impacto considerable en los afectados.

4.3.1. Hemofilia A

La hemofilia es una enfermedad devastadora de origen genético, recesiva y ligada al cromosoma X, en el cual se encuentran los genes que codifican los factores hemostáticos VIII y IX. Algunas mutaciones específicas de estos genes condicionan la aparición de la hemofilia A (HA) o B (HB). Ya que la hemofilia está ligada al cromosoma X con un patrón recesivo, solo se manifiesta en los varones, aunque las mujeres son las portadoras.

Es oportuno resaltar que, mundialmente, solo 30% de los pacientes reciben un tratamiento óptimo. García (2013) plantea que la hemofilia limita todos los aspectos de su vida, y a pesar de su prevalencia baja impacta duramente los sistemas de salud. La profilaxis primaria es el estándar de oro del tratamiento de la hemofilia grave, ya que disminuye la hemorragia articular, mejora la calidad de vida y quizá reduce el riesgo de desarrollar inhibidores. En el adulto el dilema es cómo aplicar profilaxis óptima al menor costo posible. Esta revisión aborda aspectos generales de la hemofilia con énfasis en el diagnóstico y tratamiento. (p. 308).

4.3.2. Hemofilia B

La hemofilia B, es un trastorno hereditario que resulta importante tratar porque puede causar sangrado excesivo y problemas de coagulación.

La hemofilia B es un trastorno de la coagulación causado por la deficiencia parcial o completa, o la disfunción del factor IX que resulta de una variedad de defectos en el gen FIX. Dado que la mujer posee dos cromosomas X, es comprensible que en la mayoría de los hemofílicos la madre sea la portadora del genotipo anormal, no obstante, en el 30 % de los casos, la enfermedad proviene de mutaciones de novo. En esta generalmente el nivel del factor IX es de alrededor de 50 %, ya que uno de sus cromosomas X es normal, y aunque

comúnmente son asintomáticas, algunas tienen tendencia hemorrágica (metrorragia y polimenorrea). (Guzman & Temenuska, 2013, pp. 79-84)

Cabe recalcar que la hemofilia es un trastorno causado por la deficiencia del factor IX asociado a las alteraciones en el gen FIX, en donde muchas mujeres son asintomáticas, sin embargo, algunas pueden experimentar complicaciones, por lo tanto, se enfatiza en la importancia de un correcto diagnóstico y seguimiento adecuado.

4.3.3. Hemofilia C

La deficiencia de factor XI (FXI), originalmente llamada hemofilia C, se distingue de las hemofilias A y B por la ausencia de hemorragias articulares y musculares y por su incidencia en personas de cualquier sexo. Las personas con deficiencia de FXI pueden tener o no una leve tendencia hemorrágica, la cual típicamente es provocada por una cirugía. El riesgo de hemorragias no está tan claramente influenciado por la severidad de la deficiencia, como en el caso de las hemofilias A y B, donde la tendencia hemorrágica está más claramente relacionada con el nivel del factor. La naturaleza impredecible de la deficiencia de FXI significa que el manejo clínico de este trastorno es más difícil que el de la hemofilia A o B.

Con el descubrimiento de que el factor XI coagulante (FXI:C) puede ser activado por la trombina, se esclareció la función fisiológica del mismo en la coagulación de la sangre. Este descubrimiento llevó a la revisión del modelo de coagulación y proporcionó una mayor comprensión de la genética molecular, contribuyendo ambos a un entendimiento renovado de este trastorno. (Boltón , 2004, p. 1).

En resumen, este descubrimiento en relación al avance científico brinda una perspectiva más amplia, completa y sobre todo actualizada sobre la coagulación sanguínea.

4.3.4. Hemofilias adquiridas

La hemofilia adquirida es un trastorno que puede ser complicado de diagnosticar por su naturaleza autoinmune y por la variedad de síntomas que puede presentar.

La hemofilia adquirida es un trastorno poco común debido a la producción de autoanticuerpos en la vida adulta, los cuales inactivan al factor VIII. Las manifestaciones clínicas típicas de la forma adquirida son púrpura cutánea extensa y hemorragias internas; las hemorragias articulares no son una característica notable. Ambos sexos resultan afectados y puede haber trastornos subyacentes identificables. (Giangrande, 2012, p. 2)

Es por ello, que este trastorno se produce cuando el sistema inmunitario ataca a los factores de coagulación lo que provoca sangrado espontáneo en la piel como es mencionado anteriormente y es una enfermedad autoinmune que no es causada por variantes genética heredadas.

Este trastorno se produce cuando el sistema inmunitario ataca a los factores de coagulación lo que provoca sangrado espontaneo en la piel como es mencionado anteriormente y es una enfermedad autoinmune que no es causada por variantes genética heredadas.

4.3.5. Manifestaciones clínicas

La principal manifestación clínica de la hemofilia es la hemorragia, cuyo grado depende del nivel del factor VIII o IX presente en el plasma. Por la intensidad del sangrado y el nivel del factor, la hemofilia se clasifica en tres tipos: hemofilia severa (< 1 % de actividad del factor), hemofilia moderada (de 1 a 5 % de actividad del factor), hemofilia leve (> 5 % de actividad del factor).

Los individuos con hemofilia severa por lo general experimentan hemorragias repetitivas y espontáneas. La frecuencia de cada tipo de hemofilia varía según la serie revisada, pero en general 50 % de los pacientes tiene hemofilia leve, 15 % hemofilia moderada y 35 % hemofilia grave. Los principales sitios de hemorragia son las articulaciones y entre ellas la de la rodilla; otros sitios frecuentes de hemorragia son los músculos y los tejidos blandos. Afortunadamente, las hemorragias en el sistema nervioso central ocurren en menos de 5 % de los pacientes. (Amador & Vargas, 2013, p. 640)

Las señales de la hemofilia A y B son las mismas y abarcan las siguientes:

- Propensión a los moretones.
- Hemorragias en músculos y articulaciones, particularmente rodillas, codos y tobillos.
- Hemorragias espontáneas (hemorragias internas repentinas, sin motivo aparente).
- Hemorragias durante mucho tiempo, después de lesiones, extracciones dentales o cirugías.
- Hemorragias durante mucho tiempo, después de accidentes, particularmente después de lesiones en la cabeza.

Las hemorragias en músculos y articulaciones causan las siguientes sensaciones:

- Dolor o “sensación extraña”
- Inflamación y sensación de calor
- Dolor y rigidez
- Dificultad para utilizar la articulación o el músculo afectado

4.3.6. Herencia

El gene de la hemofilia se transmite del padre o de la madre al bebé. Los genes de la hemofilia A y B se encuentran en el cromosoma X. Por este motivo la Federación Mundial de la Hemofilia (2020) plantea que la hemofilia se conoce como un trastorno ligado al cromosoma X. Todas las hijas de un padre con hemofilia heredarán la copia alterada de su cromosoma X. Ninguno de sus hijos resultará afectado porque ellos heredan su único cromosoma X de su madre. Las madres con un gene normal y un gene alterado tienen 50% de probabilidades de transmitir el gene alterado a cada bebé. Los niños que hereden el gene alterado de su madre heredarán hemofilia; las niñas que hereden el gene alterado de su madre también heredarán una copia normal de su padre. En promedio, las mujeres que han heredado una copia alterada tendrán alrededor del 50% de la cantidad normal de factor de coagulación, porque alrededor de la mitad de sus células tendrán el gene “bueno” o “normal” apagado. (p. 3)

Las alteraciones genéticas en los factores de coagulación son una de las características clave de la hemofilia. Comprender estas mutaciones es esencial para un diagnóstico preciso y un tratamiento adecuado.

La hemofilia es resultado de mutaciones de los genes que codifican a los factores VIII y IX. Hasta el momento hay múltiples mutaciones genéticas conocidas, sin embargo, la más importante en la hemofilia A es la mutación del intrón 22, causante más común de la hemofilia A severa ($< 1\%$ de actividad del factor VIII). Un tercio de todos los casos de hemofilia A es resultado de mutaciones espontáneas, sin antecedentes familiares previos. Respecto a la hemofilia B también se han descrito múltiples mutaciones genéticas, sin embargo, un tipo interesante es el fenotipo Leiden. Los individuos con fenotipo Leiden de la hemofilia B sufren hemofilia moderada o severa hasta la pubertad, después de la cual los niveles del factor IX se incrementan significativamente. (Amador y Vargas, 2013, p. 639)

En resumen, la hemofilia ya sea tipo A o B es el resultado de mutaciones genéticas que afectan los factores de mutación, así mismo, la mutación del intrón 22 es clave en la hemofilia A, en cambio en la hemofilia B, el fenotipo Leiden presenta un patrón particular, en donde estas variaciones destacan la complejidad de la enfermedad y la importancia de un diagnóstico para su manejo.

4.3.7. *Diagnostico*

Para el abordaje diagnóstico del paciente se tienen, como aspectos claves, la elaboración de una historia clínica completa, con énfasis en antecedentes familiares y semiología del sangrado, examen físico adecuado y algunos exámenes de laboratorio confirmatorios. Como pruebas de tamización se cuenta con: hemoleucograma, que permite determinar el tamaño y número de eritrocitos y plaquetas; el tiempo parcial de tromboplastina activada (TPTa); el tiempo de protrombina (TP) y el fibrinógeno. Los test de coagulación revelan combinados un TPTa prolongado con un TP normal.

Parte del diagnóstico incluye el abordaje prenatal. Generalmente, las familias con historia conocida de trastornos en la coagulación acuden a consejería médica y eligen hacer

un diagnóstico prenatal en muestras de vellosidades coriónicas o líquido amniótico. Así mismo, se pueden realizar las pruebas posparto, tomando una muestra sanguínea del cordón umbilical. Cuando se tienen valores bajos de factor VIII, es un escenario muy sugestivo de hemofilia A. El diagnóstico certero se hace por medio de la cuantificación del factor de coagulación deficiente (Martínez et al. 2018, p. 89)

El diagnóstico molecular directo, permite conocer la mutación exacta presente en el (los) afectado(s) y las portadoras de una familia. Dicho con palabras de Bermeo et al.(2007) gran parte de las mutaciones que causan hemofilia ocurren en regiones esenciales o críticas de los genes de los factores VIII y IX, éstas son la región promotora 5', los exones, los bordes exón-intrón y la región 3' cercana a la señal de poliadenilación; por tanto, la mejor estrategia para detectar una mutación es amplificar mediante PCR, esas regiones a partir del ADN genómico y posteriormente realizar una tamización con diversas estrategias como SSCP (Single Strand Conformational Polymorphism) para identificar la presencia de un posible cambio de un nucleótido de la secuencia (una mutación) y luego secuenciar los fragmentos e identificar el cambio en la secuencia silvestre del ADN. Esta metodología, aplicada al gen del FIX, que sólo tiene 8 exones, requiere cerca de 11 amplificaciones para cubrir todas las regiones esenciales. (p, 309)

En lo relativo a HA, determinar la mutación denominada inversión del intrón 22, es el primer paso en el filtro de mutaciones, pues se encuentra casi en 50% de los pacientes con HA severa, mutación que, por su longitud, requiere el análisis llamado LD-PCR (Long-Distance PCR) o Southern Blotting. En pacientes con HA leve o moderada, se analizan los segmentos de ADN amplificados en busca de una secuencia anormal, y luego se secuencian directamente el fragmento anormal; por último, se compara la mutación caracterizada con las descritas en la base de datos internacional, y si no se encuentra, se registra como una mutación nueva (Bermeo et al. 2007, p. 310)

Este proceso destaca la complejidad del diagnóstico genético y la relevancia de la comparación de datos.

4.3.8. Epidemiología

La prevalencia en la población general se estima en 1/12.000, y en niños, durante el periodo neonatal, se ha estimado en 1/5.000. La hemofilia afecta esencialmente a individuos del sexo masculino, siendo las mujeres generalmente asintomáticas o con manifestaciones leves.

La hemofilia afecta a más de 250 mil personas en 120 países en todo el mundo. Las incidencias típicamente reportadas son: El tipo más común de hemofilia se llama hemofilia A, estas personas no tienen suficiente factor de coagulación VIII (ocho). Aproximadamente 31 de cada 100,000 varones tienen hemofilia A y 4 de cada 100,000 varones tienen hemofilia B. El resultado para estas personas con este trastorno es el mismo; es decir, sangran durante un tiempo mayor al normal. (Federación Mundial de la Hemofilia , 2021, p. 11)

En Nicaragua, la federación mundial de la hemofilia en el año 2020 realizó un sondeo en el que se registran 484 casos de trastornos hemorrágicos, de los cuales 274 pacientes presentan hemofilia A con un 56.6%, de igual manera, 28 (5.8%) pacientes hemofilia B y el 37.6% restante refiere a otros trastornos de la coagulación.

4.3.9. Tratamiento

“El concentrado de FVIII liofilizado y preparado comercialmente se distribuye bajo una gran variedad de marcas. Desde mediados de los años 80, se han introducido nuevos productos que han sido sometidos a un proceso de inactivación viral” (Federación mundial de la hemofilia, 2008, p. 3):

Estos productos pueden clasificarse en tres categorías

- Productos recombinantes.
- productos purificados de anticuerpos monoclonales.
- productos de FVIII intermedios y de alta pureza (cuáles están utilizados también para la enfermedad Von Willebrand)

1. Las ampollitas se encuentran disponibles en dosis que varían entre aproximadamente 250 a 3,000 unidades cada una.
2. Cada unidad de FVIII por kilogramo de peso corporal infundida intravenosamente elevará el nivel plasmático de FVIII en 2% aproximadamente. La vida media es alrededor de 8 a 12 horas. Debe verificarse la dosis calculada midiendo el nivel de factor del paciente.
3. La fórmula para calcular la dosis para el FVIII es multiplicar el peso en kilos del paciente por el nivel de factor deseado, por 0.5 veces, lo que indicará el número de unidades de factor necesarias. Ejemplo: $45 \text{ kg} \times 40 (\% \text{ de nivel deseado}) \times 0.5 = 900$ unidades de FVIII para niveles de factor y dosis sugeridas, con base en el tipo de hemorragia.
4. El FVIII debe infundirse lentamente por vía intravenosa (IV), a una tasa que no exceda 3 ml por minuto en adultos y 100 unidades por minuto en niños pequeños.
5. Siempre administre el contenido total de cada ampollita de FVIII, aún si se excede la dosis calculada. El factor es costoso y no debe desperdiciarse.
6. La infusión continua de FVIII debe ser supervisada por un hematólogo con experiencia. Un bolo de 50 unidades/kg seguido de 4-5 unidades/kg, por hora de FVIII proporcionará un nivel de FVIII aproximado del 100% en un paciente con hemofilia A severa. Los niveles de factor deben vigilarse diariamente. Los concentrados de FVIII son estables en soluciones IV a temperatura ambiente durante por lo menos 12 horas. Por lo tanto, las bolsas de concentrados de factor para infusión continua de 12 horas pueden prepararse en la farmacia y administrarse sin preocupaciones de inactivación proteolítica, degradación o contaminación bacteriana. (Federación mundial de la hemofilia, 2008, p. 3)
7. El ácido epsilon-aminocaproico (AEAC) es un agente antifibrinolítico que puede usarse junto con productos de FVIII para trabajos dentales invasores o para el tratamiento de hemorragias bucales. No se recomienda para el tratamiento de hemorragias renales. La dosis es de 50-100 mg/kg (máximo 6 gramos), cada cuatro a seis horas, durante siete a diez días (máximo 24 gramos en 24 horas). Una preparación líquida se encuentra disponible y puede prepararse un enjuague bucal.

“El concentrado de FIX liofilizado, tratado con calor y preparado comercialmente a partir de plasma se distribuye bajo una gran variedad de marcas. Desde 1991, se han introducido nuevos productos inactivados viralmente. Estos productos se clasifican en dos categorías: (Federacion mundial de la hemofilia, 2008, p. 4)

- Productos de FIX coagulante purificados.
- concentrados de complejo de FIX, que actualmente no están disponibles en los Estados Unidos.

También está disponible un producto de FIX recombinante. Podrían existir recomendaciones de productos específicos para pacientes con infección por VIH. Se cree que los productos de FIX coagulante purificados están en gran parte libres de los riesgos de trombosis y complicaciones relacionadas con la coagulación intravascular diseminada (CID). (Federacion mundial de la hemofilia, 2008, p. 4)

1. Las ampollitas se encuentran disponibles en dosis que varían entre aproximadamente 250-1,000 unidades cada una.
2. Cada unidad de FIX por kilogramo de peso corporal infundida intravenosamente elevará el nivel plasmático de FIX en 1% aproximadamente. La semivida es de alrededor de 18 a 24 horas. Debido a un decremento en la recuperación del factor, requiere aproximadamente 20-50% más producto para lograr el mismo nivel máximo, aunque algunos niños necesitan cantidades mayores. Por lo tanto, 1.2 unidades/kg en adultos y 1.5 unidades/kg en niños elevarán el nivel de FIX en 1%.
3. La fórmula para calcular la dosis de FIX plasmático es tomar el peso del paciente en kilos y multiplicarlo por el nivel de factor deseado, lo que indicará el número de unidades de factor necesarias. Ejemplo: 45 kg x 40 (% nivel deseado)= 1800 unidades de FIX Consulte el cuadro de la página 14 para niveles de factor y dosis sugeridas, con base en el tipo de hemorragia.
4. El FIX debe infundirse lentamente por vía IV, a una tasa que no exceda un volumen de 3 ml por minuto.

5. La infusión continua de concentrados de FIX purificados debe ser supervisada por un hematólogo con experiencia.

El plasma fresco congelado contiene factores VIII y factor IX, Sin embargo, a menos que se realice intercambio de plasma, en general no es posible administrar suficiente plasma entero a los pacientes con hemofilia grave para aumentar el factor VIII o el factor IX a concentraciones que controlen la hemorragia. Por lo tanto, el plasma fresco congelado debe usarse solo si no se dispone de concentrados de factor. (Streiff et al, 2023, párr. 21)

El crioprecipitado contiene factor VIII y puede usarse como un producto de remplazo si no se dispone de concentrados de factor VIII. Cada unidad de crioprecipitado contiene 80 unidades de factor VIII. Debido a que el plasma y el crioprecipitado no suelen inactivarse con virus, estos hemoderivados deben usarse solo en emergencias cuando no se dispone de concentrados de factor. (Streiff et al, 2023, párr. 22)

4.4.Rol del laboratorio

El rol del laboratorio clínico es vital para garantizar un diagnóstico certero y un tratamiento optimo de este trastorno mediante la realización de diversos procedimientos técnicos., estas técnicas incluyen pruebas de coagulación, ensayo específico de factores de coagulación y pruebas genéticas que son esenciales para identificar y caracterizar la hemofilia., la presión y diagnostico permite un manejo adecuado de la enfermedad, lo que mejora significativamente la calidad de vida de los pacientes., previniendo complicaciones asociada a la hemofilia.

4.4.1. Recuento de plaqueta

“La sangre se mezcla con un diluyente que hemoliza los glóbulos rojos. El líquido diluido se coloca en un hemocitómetro y luego se cuentan las plaquetas en el microscopio, usando contraste de fases, si es posible” (Kitchen et al, 2010, p. 30).

4.4.1.1. Materiales/equipamiento

1. Cámara de recuento delgada, de fondo plano (hemocitómetro de contraste de fases con grillas de Neubauer).

2. Microscopio de contraste de fases equipado con condensador de fases de larga distancia de trabajo; si no, un microscopio óptico corriente.
3. Pipeta de 20 μ l.
4. Pipeta graduada de 2 ml.
5. Tubo de 12 $\times$ 75 mm.
6. Mezcladora mecánica.
7. Fluido diluyente: oxalato de amonio 1% en agua destilada. Conservar en el refrigerador y siempre filtrar inmediatamente antes de usar.

4.4.1.2.Método

1. Pipetear 0,38 ml de fluido diluyente (oxalato de amonio 1%) en un tubo de ensayo.
2. Llenar la pipeta de 20 μ l de sangre.
3. Volcar el contenido de la pipeta en el fluido diluyente y enjuagar la pipeta extrayendo la sangre y volcándola dentro del tubo varias veces.
4. Llenar el hemocitómetro, como se describe a continuación.
5. Cubrir la cámara con una placa de Petri de 10 a 20 minutos para permitir que las plaquetas se asienten. Dejar papel de filtro o algodón húmedo en la placa para evitar la evaporación.
6. Usando un microscopio, contar las plaquetas en los cuadrados grandes de 1 mm (= 0,1 μ l). Contar las plaquetas en todos los cuadrados que sean necesarios para llegar a contar al menos 100. Las plaquetas se ven redondas u ovaladas y debido a su estructura granular interna y su lustre púrpura es posible distinguirlas de los residuos. En el fondo se ven restos de glóbulos rojos que han sido descompuestos por el oxalato de amonio. Si no se dispone de contraste de fases, se puede utilizar un microscopio óptico corriente, siempre que se baje el condensador para disminuir la intensidad de la luz.
7. Calcular la cantidad de plaquetas por litro de sangre de acuerdo con la fórmula que aparece más abajo.

4.4.2. Tiempo de Protrombina (PT)

“Tromboplastina cálcica de alta sensibilidad para la determinación del Tiempo de Protrombina, para la evaluación de la vía extrínseca de la coagulación y para el control de la Terapia Anticoagulante Oral en plasma humano citratado” (SPINREACT, 2016, p. 1).

4.4.2.1. Principio.

El ensayo mide el tiempo transcurrido hasta la formación del coágulo después de la mezcla del plasma con Tromboplastina (un extracto de tejido rico en Factor Tisular, fosfolípidos y calcio). La coagulación se inicia por activación del FVII con el Factor Tisular. Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (APTT).

4.4.2.2. Procedimiento.

1. Precalentar a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ la cantidad necesaria de reactivo de Tromboplastina y la muestra durante no más de 10 min.
2. Iniciar el test PT mezclando dos volúmenes (ejemplo: 200 μl) de reactivo precalentado con un volumen (ejemplo: 100 μl) de plasma citratado precalentado. Empezar a contar el tiempo transcurrido en el momento de la mezcla. Detener en el momento de la formación del coágulo.

4.4.3. Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (APTT)

Los factores intrínsecos de la coagulación se activan en presencia de un complejo fosfolipídico y un activador soluble en plasma citratado; se mide el tiempo transcurrido después de la adición del cloruro cálcico (CaCl_2) hasta la formación del coágulo de fibrina. (SPINREACT, 2012, p. 1)

4.4.3.1. Principio.

La medida del tiempo de APTT, es la determinación más común junto con la PT, sirve para determinar trastornos de la coagulación y es particularmente sensible a los defectos de la coagulación intrínseca (Factores VIII, IX, XI, XII). Se usa normalmente para la monitorización de

las terapias anticoagulantes con heparina. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

4.4.3.2. Procedimiento.

1. Calentar a 37°C los reactivos y la muestra.
2. Mezclar bien los reactivos sin agitarlos.
3. Pipetear en un tubo de ensayo limpio y seco: Plasma citratado (μL) 100, R1 Ácido elágico (μL) 100
4. Mezclar bien e incubar exactamente 5 min. a 37°C (tiempo de activación).
5. Pipetear: R 2 (μL) 100
6. Mezclar
7. Poner en marcha el cronómetro o el controlador de tiempo del coagulómetro y medir el tiempo de formación del coágulo, a partir de la adición del R2 Iniciador.

4.4.4. Fibrinógeno

El Fibrinógeno (Factor I), proteína sintetizada en el hígado, es un componente de la sangre utilizado para formar el coágulo. Su determinación nos ayuda a evaluar las alteraciones en los mecanismos de coagulación. La concentración de fibrinógeno se incrementa en inflamaciones agudas y embarazo; por el contrario, se observan valores bajos en terapias trombolíticas, enfermedades hepáticas, disfibrinogenia congénita, DIC (Coagulación intravascular diseminada) y pancreatitis. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio. (SPINREACT, 2015, p. 1)

4.4.4.1. Principio.

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

trombina, el tiempo necesario para la formación del coágulo en el plasma diluido es inversamente proporcional a la concentración de fibrinógeno.

4.4.4.2. **Procedimiento técnico.**

“El reactivo puede emplearse en técnica manual, mecánica, foto óptica o con cualquier instrumento apto para detectar la formación del coágulo” (SPINREACT, 2015, p. 1).

1. Preparar una dilución 1/10 de la muestra y los Controles en Tampón Imidazol: 50 μ L muestra + 450 μ L Tampón Imidazol (R2). La muestra diluida debe ser procesada antes de 1 hora.
2. Preparar las siguientes diluciones del Calibrador en Tampón Imidazol:
3. A 0,2 ml de cada dilución añadir 20 μ L de Solución caolín (R3) y atemperar a 37°C durante 4-6 minutos.
4. Añadir 0,1 ml de reactivo R1 y cronometrar la formación de coágulos. No atemperar la trombina R1.

4.4.5. ***Preparación de plasma fresco congelado***

El plasma se separa de los elementos celulares de la sangre y se congela para preservar la actividad de los factores lábiles de la coagulación. El plasma debe ser separado para congelación antes de las 8 horas posteriores a la flebotomía. (Ministerio de Salud, 2002, p. 36)

4.4.5.1. **Materiales y Reactivos.**

1. Sangre entera recién colectada, obtenida por flebotomía como se describe en una unidad de colección recipiente (s) de transferencia incorporados integralmente.
2. Clips de metal y sellador manual.
3. Instrumentos limpios (tijeras, hemostatos).

4.4.5.2. **Equipos.**

1. Sellador dieléctrico (opcional).
2. Extractor de plasma.

4.4.5.3. Procedimiento.

1. Centrifugar la sangre rápidamente después de la colección a 5.000 xg 7 minutos). Utilizar una centrifuga refrigerada a $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ a menos que también se preparen plaquetas.
2. Colocar la bolsa primaria que contiene la sangre centrifugada en un extractor de plasma y colocar la bolsa satélite anexa sobre una balanza ajustada en cero. plasma. Exprimir el plasma hacia la bolsa satélite y pesar el plasma.
3. Sellar la guía de transferencia con un sellador dieléctrico o clips de metal, pero no obliterar los números de segmentos de la guía. Colocar otro sello más cerca de la bolsa de transferencia.
4. Rotular la bolsa de transferencia con el número de unidad antes de separarlo del recipiente original. Registrar el volumen de plasma en el rótulo.
5. Cortar la guía entre los dos sellados. La guía puede ser enrollada y pegada con cinta adhesiva contra la bolsa de plasma, dejando los segmentos disponibles para cualquier prueba deseada.
6. Colocar plasma a -18°C o menos para asegurar que sea un sólido congelado.

4.4.6. Preparación de FAH crioprecipitado

Se puede concentrar el Factor VIII de la coagulación (factor antihemofílico, FAH) de plasma colectado fresco por crioprecipitación. La crioprecipitación se alcanza mediante el descongelamiento lento a $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ de plasma que ha sido separado para congelamiento antes de las 8 horas posteriores a la flebotomía. (Ministerio de Salud, 2002, p. 38)

4.4.6.1. Materiales.

1. Sangre entera recién recolectada, obtenida por flebotomía como se describe en una unidad de colección como mínimo con dos recipientes de transferencia incorporados integralmente.
2. Clips de metal y sellador manual.
3. Instrumentos limpios (tijeras, hemostatos).

4.4.6.2. Equipo.

1. Extractor de plasma.

2. Sellador dieléctrico (opcional).
3. Centrífuga refrigerada.
4. Refrigerador para Banco de Sangre
5. Aparato de congelamiento: dispositivos apropiados de congelamiento incluyen congeladores (blast freezers) o congeladores mecánicos capaces de mantener temperaturas de -18°C o menores; hielo seco o un baño de etanol-hielo seco. Un baño de etanol-hielo seco en viruta, se puede completar el congelamiento en unos 15 minutos.

4.4.6.3. Procedimiento.

1. Colectar sangre en una unidad de colección con dos recipientes de transferencia incorporados integralmente.
2. Centrifugar la sangre poco después de la colección a $4\pm 2^{\circ}\text{C}$, utilizando alta centrifugación.
3. Colectar como mínimo 200 ml (205 g) de plasma libre de células para el procesamiento del crioprecipitado.
4. Colocar rápidamente el plasma en un dispositivo de congelamiento de modo que se congele dentro de una hora desde el momento en que se inició el proceso de congelación. Si las bolsas de plasma son sumergidas en un baño de etanol hielo seco deben estar protegidas con una envoltura de plástico.
5. Dejar descongelar el plasma entre $4\pm 2^{\circ}\text{C}$, colocando la bolsa en un baño de agua con circulación o en un refrigerador. Si se descongela en un baño de agua, utilizar una envoltura de plástico (u otro medio) para mantener secas las puertas de la bolsa.
6. Cuando el plasma tiene una consistencia fangosa, separar el plasma líquido del crioprecipitado por uno de los procedimientos siguientes:
7. Centrifugar el plasma a $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ utilizando alta velocidad. Colgar la bolsa en posición invertida y dejar que el plasma separado fluya rápidamente en la bolsa de transferencia dejando place a crioprecipitado se adhiera a los costados de la bolsa primaria. Separar rápidamente, para evitar que el crioprecipitado se disuelva y salga fuera de la bolsa. Se pueden dejar 10 a 15 ml de plasma sobrenadante en la bolsa para resuspender el

crioprecipitado después del congelamiento. inmediatamente el crioprecipitado. Volver a congelar.

8. Colocar el plasma que se está descongelando en un extractor de plasma cuando aún está congelado aproximadamente el 10% del contenido. Con la bolsa en posición erecta, dejar que el plasma sobrenadante fluya lentamente a la bolsa de transferencia, utilizando los cristales de hielo en la parte superior como filtro. La pasta de crioprecipitado se adhiere a los costados de la bolsa o al hielo. Sellar la bolsa cuando se haya extraído aproximadamente el 90% del plasma pobre en crioprecipitado y volver a congelar inmediatamente el crioprecipitado.
9. Almacenar a -18°C o menos, de preferencia -30°C o menos, hasta 12 meses desde la fecha de colección de la sangre.

4.4.7. Preparación de plaquetas a partir de sangre entera

El plasma rico en plaquetas es separado de la sangre entera, antes de las 8 horas posteriores a la flebotomía con centrifugación leve o baja velocidad (2.000 xg) por 3 minutos y las por con centrifugación pesada o alta velocidad con extracción posterior del plasma sobrenadante. (Ministerio de Salud, 2002, pp. 42-43)

4.4.7.1. Materiales y Reactivos

1. Sangre entera recién colectada en una unidad de colección con dos bolsas satélites.
2. Clips de metal y sellador manual.
3. Tijeras, hemostatos.

4.4.7.2. Equipos.

1. Extractor de plasma.
2. Sellador dieléctrico (opcional).
3. Centrífuga refrigerada calibrada.

4.4.7.3. Procedimiento.

1. No enfriar la sangre en ningún momento antes o durante la separación de las plaquetas. Si la temperatura de la centrífuga es de $4\pm 2^{\circ}\text{C}$, regular el control de temperatura de la

centrífuga refrigerada a 20°C y dejar que la temperatura se eleve hasta aproximadamente 20°C.

2. Centrifugar la sangre utilizando una centrifugación "suave".
3. Extraer el plasma rico en plaquetas hacia la bolsa de transferencia destinada al almacenamiento de plaquetas. Sellar la guía dos veces entre la bolsa primaria y el conector en Y de las dos bolsas satélites y cortar entre los dos sellados. Colocar los eritrocitos a $4\pm 2^\circ\text{C}$.
4. Centrifugar el plasma rico en plaquetas a 20°C utilizando una centrifugación "pesada"
5. Extraer el plasma pobre en plaquetas hacia la segunda bolsa de transferencia y sellar la guía. Debe quedar algo de plasma en el botón plaquetario para su almacenamiento, pero no se puede designar un volumen exacto. Los standards de la AABB exigen que quede suficiente plasma con el concentrado de plaquetas como para mantener el pH en 6 o más alto durante todo el período de almacenamiento. En general esto exige un mínimo de 35 ml de plasma cuando el almacenamiento es a $22\pm 2^\circ\text{C}$, pero es preferible 50-70 ml.

4.4.8. Resuspensión de plaquetas

“Las plaquetas centrifugadas se agregan en forma irreversible si son sometidas a una agitación brusca. Los procedimientos descritos permiten una nueva suspensión sin agregación irreversible” (Ministerio de Salud, 2002, p. 44).

4.4.8.1. Materiales y equipo.

1. Concentrado de plaquetas.
2. Incubador de plaquetas
3. Rotador de plaquetas

4.4.8.2. Procedimiento.

Resuspender las plaquetas en una de las siguientes formas:

1. La bolsa debe quedar en reposo, con el lado del rótulo hacia abajo, a $22\pm 2^\circ\text{C}$ aproximadamente durante 1 hora.

2. Manipular el recipiente de las plaquetas manualmente para lograr una resuspensión uniforme.
3. Colocar el recipiente en un rotador a temperatura ambiente. La agitación lenta y suave debe lograr una resuspensión uniforme dentro de las 2 horas.
4. Mantener las suspensiones de plaquetas a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ con agitación suave continua.
5. Las plaquetas deben ser inspeccionadas antes de despacharlas para asegurarse que no se visualizan agregados plaquetarios.

4.4.9. Ensayos de factor basados en el tiempo de protrombina (factores II, V, VII o X)

Para analizar los factores II, V, VII y X, se puede recurrir a un ensayo de una etapa basado en el tiempo de protrombina. Básicamente, el ensayo consiste en comparar la capacidad que tienen las diluciones de plasma estándar o de referencia con las de plasma de prueba de corregir el tiempo de protrombina de un plasma que se conoce que es totalmente deficiente en el factor de coagulación que se está midiendo. Por ejemplo, en un ensayo de factor V, como se describe más adelante, el plasma es deficiente en factor V, pero contiene cantidades normales de factores II, VII, X y fibrinógeno.

Los factores de coagulación II, VII y X se pueden analizar de la misma forma, reemplazando el plasma deficiente respectivo con plasma deficiente en factor V, como en el ejemplo que se cita más adelante y usando el plasma de referencia apropiado con una concentración conocida del factor que se está analizando. (Kitchen et al, 2010, pp. 64-66)

4.4.9.1. Reactivos

- Plasma deficiente en factor V Puede ser por una deficiencia congénita o artificial (plasma envejecido) de factor V.
- Tampón salino de Owren (OBS) OBS o tampón de glioxalina.
- Plasma citratado pobre en plaquetas: de prueba y estándar. Para el estándar, usar un pool de plasma normal de 20 donantes (mantenido a -70°C o a una temperatura inferior) o un plasma comercial de referencia o estándar.
- Tromboplastina o calcio (al igual que en las pruebas de TP)

4.4.9.2. Método

1. Tanto para el plasma de prueba como para el estándar, preparar diluciones en tubos de plástico.

Importante: Mezclar bien la dilución 1/10 antes de usarla para preparar la dilución 1/20. A su vez, mezclar bien la dilución 1/20 antes de usarla para preparar la dilución 1/40. Analizar las diluciones de plasma inmediatamente después de su preparación. Si la temperatura ambiente supera los 25°C, podría resultar necesario mantener las diluciones en hielo antes de someterlas a análisis. (Kitchen et al, 2010, pp. 64 - 66)

- Pipetear 0,1 ml de cada dilución en un tubo de vidrio de 75 × 10 mm.
- Añadir 0,1 ml de plasma deficiente en factor V.
- Calentar hasta 37 °C durante 2 minutos.
- Añadir 0,2 ml de reactivo de tromboplastina o calcio precalentado.
- Poner en marcha el cronómetro y mezclar.

Importante: Si el reactivo de tromboplastina no contiene calcio, añadir 0,1 ml de tromboplastina a la mezcla de la dilución y el plasma deficiente. Esperar de 1 a 2 minutos mientras se calienta la preparación hasta 37 °C y coagular con 0,1 ml de calcio precalentado (hasta 37 °C).

2. Anotar el tiempo de coagulación.
3. Repetir el procedimiento para las diluciones de plasma de prueba. Para los plasmas de prueba que se prevé que serán normales, analizar diluciones 1/10, 1/20 y 1/40.

Para los plasmas de prueba que se prevé que tendrán niveles reducidos, analizar diluciones 1/5, 1/10 y 1/20.

También se deberá analizar una muestra testigo con lo siguiente:

- 1 ml de OBS;
- 0,1 ml de plasma deficiente en factor V;
- 0,2 ml de reactivo de tromboplastina o calcio.

El tiempo de coagulación de la muestra testigo refleja la calidad del plasma deficiente que debería estar por debajo del 1%.

3.4.10. Ensayos de factor basados en el TTPA (ensayo de una etapa de los factores VIII:C, IX, XI o XII)

El ensayo de una etapa del factor VIII. El ensayo compara la capacidad de las diluciones de plasma estándar y plasma de prueba para corregir el TTPA de un plasma que se sabe que es totalmente deficiente en factor VIII pero que contiene todos los demás factores necesarios para una coagulación normal. Para los factores IX, XI y XII el ensayo es básicamente el mismo y se realiza reemplazando el plasma deficiente en factor VIII por el plasma deficiente relevante, una vez que se haya seleccionado el plasma de referencia adecuado. (Kitchen et al, 2010, pp. 67- 69)

3.4.10.1. Reactivos

1. Plasma estándar y de prueba citratado pobre en plaquetas Para el plasma estándar, se preparará un pool en el laboratorio que se conservará a -70°C o a una temperatura inferior, o bien se adquirirá un plasma estándar comercial. En cualquiera de los casos, dicho plasma de referencia se deberá calibrar en función de un estándar internacional para el factor VIII. No se debe suponer que un pool de plasma normal tiene 100 U/dl de factor VIII: C.
2. Plasma deficiente en factor VIII Se podrá utilizar uno comercial o se extraerá de un donante cuyo nivel de factor VIII sea inferior a 1 U/dl, que no tenga anticuerpos anti-factor VIII, no haya recibido ningún tratamiento en las dos semanas anteriores y presente resultados normales en las pruebas de función hepática. La función hepática anormal puede causar la disminución de otros factores de la coagulación, lo que afectaría la especificidad del ensayo. Este plasma puede almacenarse en alícuotas a -37°C . Es preferible usar plasma deficiente en factor VIII producido por inmunodepresión del factor VIII a partir de plasma normal usando un anticuerpo monoclonal. Este tipo de material está a la venta y tiene la ventaja de que ofrece seguridad viral comparado con el plasma de pacientes con hemofilia tratados con productos plasmáticos. Sin embargo, no todo el plasma inmunodepletado tiene <1 U/dl por lo que es fundamental verificarlo. Algunos expertos sostienen que la presencia de una concentración normal de FvW en el plasma deficiente en factor VIII puede resultar

beneficiosa, teoría que se sustenta en los ensayos de factor VIII que se llevan a cabo como parte de la determinación del inhibidor de factor VIII. Reactivo de TTPA <1 U/dl por lo que es fundamental verificarlo. (Kitchen et al, 2010, pp. 67-69)

3. Reactivo de TTPA
4. Tampón salino de Owren (OBS o tampón de glioxalina)
5. CaCl₂ 25 mm

3.4.10.2. Método

1. Diluir el plasma estándar y de prueba en tubos de plástico en solución salina tampón en una proporción de 1/10 (si se prevé que el plasma de prueba tendrá un nivel muy bajo de factor VIII, empezar con una dilución 1/5).
2. Usando volúmenes de 0,2 ml, hacer diluciones 1:2 de plasma estándar y plasma de prueba en OBS desde 1/10 hasta 1/40 en tubos de plástico (mezclar bien cada dilución antes de transferirla al siguiente tubo). Analizar las diluciones de plasma inmediatamente después de su preparación. Si la temperatura ambiente supera los 25°C podría resultar necesario mantener las diluciones en hielo antes de someterlas a análisis.
3. Pipetear 0,1 ml de cada dilución estándar en un tubo de vidrio de 75 × 10 mm.
4. Añadir 0,1 ml de plasma deficiente en factor VIII y transferirlo a un baño de María a 37 °C.
5. Añadir 0,1 ml de reactivo de TTPA e incubar durante 5 minutos.
6. A los 5 minutos, añadir 0,1 ml de CaCl₂ y registrar el tiempo de coagulación. Además, preparar una muestra testigo de la siguiente forma:
 - 0,1 ml de OBS;
 - 0,1 ml de plasma deficiente en factor VIII
 - 0,1 ml de reactivo de TTPA
 - Incubar durante 5 minutos
 - 0,1 ml de CaCl₂.

El tiempo de coagulación de la muestra testigo debe ser mayor que el tiempo del 1% de la actividad del factor VIII del plasma estándar según el gráfico de calibración. Si el tiempo es menor,

el plasma sustrato no es totalmente deficiente en factor VIII, por lo que no resulta adecuado para la prueba.

3.4.10.3. Resultados

- Representar los resultados sobre una hoja para escala logarítmica doble o logarítmica/lineal.
- A la dilución 1/10, se le asigna arbitrariamente un valor de 100%, a la dilución de 1/20, un valor de 50% y a la dilución de 1/40, un valor de 25%.
- Se deberían obtener líneas rectas y paralelas entre sí. Hacer una lectura de la concentración de la muestra de prueba, la concentración de factor VIII en la muestra de prueba es del 7% del estándar. Si el estándar tiene una concentración de 85 UI/dl, la concentración de la muestra de prueba será equivalente a $85 \text{ UI/dl} \times 7\% = 6 \text{ UI/dl}$. Si las líneas no son paralelas se deberá repetir el ensayo.
- Las líneas no paralelas pueden deberse a un error técnico. Si se descartan los errores técnicos, la causa de las líneas no paralelas puede ser la presencia de un inhibidor, específico del factor VIII, o bien de tipo lúpico, caso en el cual se presentaría un patrón convergente. Las líneas divergentes son características de una muestra activada. (Kitchen et al, 2010, pp. 67- 70)

3.4.11. Prueba de rastreo del factor XIII

La trombina y el calcio son necesarios para activar el factor XIII de modo tal que entrelaza la fibrina y actúa como factor estabilizante. Si bien en este método se usa plasma citratado, todavía hay suficientes iones de calcio disponibles para activar el factor XIII.

Se usa plasma normal anticoagulado con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) para control. En este plasma, el EDTA ocasiona una quelación completa de los iones de calcio, lo que significa que el factor XIII no podrá entrelazar la fibrina. Si se agrega ácido acético al 2% o urea 5M se produce la disolución de los coágulos no entrelazados, mientras que el plasma citratado con más de 10 U/dl de actividad del factor XIII tiene un coágulo insoluble. En general la prueba es

más sensible si se emplea ácido acético (en vez de urea), ya que el coágulo se disolverá a niveles más altos de factor XIII en presencia del ácido acético. (Kitchen et al, 2010, pp. 62-63)

3.4.11.1. Materiales y reactivos

- Tubos de vidrio de 75 × 10 mm.
- Solución salina al 0,9%.
- Trombina 30 U/ml.
- Plasma normal con EDTA.
- Ácido acético al 2%.

3.4.11.2. Método

1. Agregar 0,2 ml de plasma citratado de prueba hasta alcanzar 0,2 ml de solución salina al 0,9% en un tubo de vidrio. Para un control positivo, repetir con 0,2 ml de plasma de EDTA. Para un control negativo, repetir con 0,2 ml de plasma normal citratado.
2. Agregar 0,1 ml de 30 U/ml de trombina. Mezclar.
3. Dejar durante 30 minutos a 37 °C.
4. Golpetear los tubos para separar los coágulos de las paredes.
5. Agregar 5 ml de ácido acético al 2% y colocar un tapón al tubo.
6. Dejar a temperatura ambiente durante 12 horas.

3.4.11.3. Resultados

- El plasma de EDTA no debe tener ningún coágulo visible.
- El plasma normal citratado debe tener un coágulo intacto y visible.
- Si el coágulo no está visible, la persona tiene deficiencia del factor XIII.

Rango normal:

Las personas normales tienen un coágulo visible luego de 12 horas en ácido acético al 2%.⁴

3.4.12. Ensayo del antígeno del factor von Willebrand (FvW:Ag) por método ELISA

Se recubre la superficie plástica de los pocillos de una placa de microtitulación con un anticuerpo policlonal contra el factor von Willebrand (FvW) humano. Se añaden diluciones del plasma de prueba y del plasma estándar y se incuban, proceso durante el cual el anticuerpo se

unirá al FvW. Se añade un segundo anticuerpo marcado con enzimas, que a su vez se une al FvW. La cantidad de anticuerpo unido, y por tanto de FvW presente, se cuantifica añadiendo un sustrato enzimático, lo que provoca la aparición de un color. (Kitchen et al, 2010, pp. 87-89)

3.4.12.1. Materiales y reactivos

- Tampón de carbonato 0,05 M (pH: 9,6) Para 1 litro: 1,59 g de carbonato de sodio 2,93 g de carbonato hidrogenado de sodio 0,20 g de azida sódica
- Tampón de fosfato salino (PBS) 0,01 M (pH: 7,2) Para 1 litro: 0,345g de fosfato dihidrogenado de sodio 2,680g de fosfato hidrogenado disódico 12H₂O 8,474 g de cloruro sódico Tween PBS 20, 1 ml/l Tween PBS 20, 0,5 ml/l
- Tampón citrato fosfato 0,1 M (pH: 5,0) Para 1 litro: 7,30g de ácido cítrico 23,87g de fosfato hidrogenado disódico 12H₂O
- Disolver 80 mg de 1,2 dicloruro de ortofenilendiamina en 15 ml de tampón citrato fosfato. Añadir 10 µl de peróxido de hidrógeno de 20 vol.

Importante: Preparar solución fresca al momento de utilizarla.

- Anticuerpo anti-FvW Por ejemplo: FvW antihumano de conejo de DAKO A/S (Produktionsvej, DK-2600 Glastrup, Dinamarca)
- Anticuerpo anti-FvW, conjugado con enzima peroxidasa (también de DAKO).

Importante: Se pueden utilizar anticuerpos de otros fabricantes con los mismos resultados. La dilución del anticuerpo sugerida más adelante puede variar en función del fabricante y del número de lote del anticuerpo utilizado.

- Placas de microtitulación desechables y lector de placas.
- Solución de ácido sulfúrico al 10%

3.4.12.2. Método

1. En cada pocillo a utilizar añadir 100 µl de anticuerpo diluido en el tampón de carbonato en una proporción de 1/1000. Incubar la placa durante 1 hora en cámara húmeda a temperatura ambiente.

2. Lavar los pocillos llenándolos con Tween PBS 0,5 ml/l. Colocar las placas boca abajo y sacudir ligeramente sobre papel absorbente. Repetir la operación 4 veces.
3. Diluir el plasma estándar (1/20, 1/30, 1/40, 1/50, 1/80, 1/160, 1/320) y el plasma de prueba (1/20, 1/40, 1/80 y 1/160 si se esperan resultados normales y 1/5 si se esperan resultados bajos) en Tween PBS 1 ml/l.
4. Añadir 100 µl de cada dilución a los pocillos, incubar durante 1 hora y lavar la placa. La incubación y el lavado se harán de la misma forma que se indica más arriba.
5. Añadir 100 µl del anticuerpo anti-FvW conjugado con la peroxidasa de DAKO (diluido en 1/1000 en Tween PBS 1 ml/l) a cada pocillo e incubar como se indica más arriba.
6. Preparar el sustrato y protegerlo de la luz cubriendo el agitador universal con papel de aluminio. Mezclar hasta que se disuelvan los cristales o la tableta (añadir peróxido de hidrógeno al momento de utilizar el sustrato).
7. Encender el lector de placas.
8. Lavar los pocillos dos veces en Tween PBS 0,5 ml/l y una vez en tampón de citrato fosfato 0,1 M.
9. Añadir 100 µl de solución de sustrato fresca a cada pocillo e incubar la placa en cámara húmeda a temperatura ambiente durante aproximadamente 6 minutos (hasta que aparezca el color en la dilución más baja del estándar).
10. Detener la reacción añadiendo 100 µl de solución de ácido sulfúrico al 10% a cada pocillo, con la misma velocidad con la que se añadió el sustrato. Se utiliza una pipeta multicanal, es conveniente añadir el sustrato a una hilera de pocillos por vez con un intervalo de 10 segundos entre una hilera y otra y luego añadir el ácido sulfúrico con la misma secuencia y con los mismos intervalos de 10 segundos.
11. Hacer una lectura de la densidad óptica (DO) a 492 nm.

V. Conclusiones

La principal manifestación clínica de la hemofilia es la hemorragia, cuya severidad depende del nivel del factor VIII o IX presente en el plasma, la actividad del factor deficiente determina el peligro a hemorragia, esta puede ser leve, moderada y grave. La hemofilia es una enfermedad que está ligada al cromosoma X afectando esencialmente a individuos del sexo masculino siendo las mujeres generalmente asintomáticas o con manifestaciones leves. Las señales de la hemofilia A y B son las mismas y abarcan la propensión a los moretones, hemorragias en los músculos y articulaciones, sin embargo, la hemofilia C se distingue por la ausencia de hemorragias articulares y musculares, además, por su incidencia en personas de cualquier sexo.

La hemofilia afecta a más de 250 mil personas en 125 países en todo el mundo. Las incidencias mayormente reportadas son la hemofilia A la cual se caracteriza por la deficiencia del factor VIII. Aproximadamente 31 de cada 100,000 varones tienen hemofilia A y 4 de cada 100,000 varones tienen hemofilia B.

En Nicaragua, la federación mundial de la hemofilia en el año 2020 realizó un sondeo en el que se registran 484 casos de trastornos hemorrágicos, de los cuales 274 pacientes presentan hemofilia A con un 56.6%, de igual manera, 28 (5.8%) pacientes con hemofilia B y el 37.6% restante refiere a otros trastornos de la coagulación. De igual forma, en Managua, Nicaragua se efectuó un estudio que tenía como objetivo identificar las características clínicas y epidemiológicas en pacientes con hemofilia, según los resultados obtenidos, el departamento con mayores casos de hemofilia fue Managua con una 36.3% y el tipo de hemofilia con mayor predominio es el tipo A con un 86.8%.

El laboratorio clínico ha tenido un rol esencial en la preservación de la salud y en la prevención de la enfermedad. De hecho, una práctica de laboratorio que brinde resultados precisos, exactos, oportunos y de utilidad clínica puede llegar a tener un alto impacto en la calidad de vida de los pacientes. En este sentido, los laboratorios clínicos se han convertido en un aliado estratégico en el tratamiento de los pacientes con hemofilia aumentando así la esperanza de vida de quienes padecen esta enfermedad.

VI. Bibliografía

- Amador , L. F., & Vargas, A. (2013). Hemofilia. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 51(6), 640.
- Bermeo, S. M., Silva , C. T., Fonseca , D. J., & Restrepo, C. M. (2007). Hemofilia: diagnóstico molecular y alternativas de tratamiento. *Colombia Medica*, 38(3), 308-315.
- Boltón , P. (2004). DEFICIENCIA DEL FACTOR XI. En F. M. Hemofilia, *Tratamiento de la Hemofilia* (pág. 1). Federacion Mundial de la Hemofilia. Obtenido de <https://www1.wfh.org/publication/files/pdf-1142.pdf>
- Boza, S. M. (2016). *Fundamentos de Hematologia*. Universidad de Costa Rica.
- Dávila, M. E. (2007). *CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y SOBREVIVENCIA DE PERSONAS HEMOFILICAS ATENDIDAS EN EL CENTRO NACIONAL DE SANGRE DE NICARAGUA, 2000-2006*. UNAN-Managua.
- Federación Mundial de la Hemofilia . (2021). *Informe del Sondeo Mundial Anual 2020*. Federación Mundial de la Hemofilia .
- Federacion mundial de la hemofilia. (2008). *Protocolo para el tratamiento de la hemofilia y de la enfermedad de Von willebrand* (3 ed.). Georgia, Estados unidos : Federacion mundial de la hemofilia.
- Federacion Mundial de la Hemofilia. (2020). *3a edición de las Guías de la FMH para el tratamiento de la hemofilia*. FMH.
- Garcia, J. (13 de Marzo de 2013). *hemofilia*. Obtenido de Gaceta Médica de México.: https://www.anmm.org.mx/GMM/2013/n3/GMM_149_2013_3_308-321.pdf
- García, J., & Majluf, A. (2013). Hemofilia. *Gaceta Médica de México*, 149(21), 308. Obtenido de https://www.anmm.org.mx/GMM/2013/n3/GMM_149_2013_3_308-321.pdf
- Giangrande, P. (2012). *Hemofila Adquirida*. Federacion Mundial de la Hemofilia.

- Guzman, A., & Temenuska, I. (2013). Hemofilia tipo B en Mujeres. *Dialnet*, 8(2), 79-84. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5976555>
- Hernandez, C., & Cabrales, J. L. (2024). Trastornos de la coagulación: factor V Leiden, panorama biológico, clínico y epidemiológico. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*, 67(2), 7-18. <https://doi.org/10.22201>
- Kasper, C. (2008). TRASTORNOS HEREDITARIOS DE LOS FACTORES DE COAGULACIÓN. *federacion mundial de la hemofilia*(4), 6. Obtenido de <https://www1.wfh.org/publications/files/pdf-1114.pdf>
- Kitchen, S., McCraw, A., & Echenagucia, M. (2010). *Diagnóstico de la hemofilia y otros trastornos de la coagulación* (Segunda ed.). Canadá : Federacion Mundial de la Hemofilia.
- Martínez, J. A. (2022). *Validación del instrumento de medida haemophilia activities list para la evaluación de las capacidades autopercebidas de actividad física en pacientes con hemofilia*. Universidad del valle.
- Martínez, L. M., Ruiz, C., Álvarez, L. F., Jaramillo, L. I., Builes, L. N., & Villega, J. D. (2018). Hemofilia: abordaje diagnóstico y terapéutico. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 36(2). <https://doi.org/https://doi.org/10.17533/udea.rfnsp.v36n2a11>
- Ministerio de Salud. (2002). *Manual de procedimientos de medicina transfusional*. Managua , Nicaragua: Ministerio de Salud.
- Miranda, M. J., Gutierrez, J. A., & Lara, M. A. (2019). *Características clínico epidemiológicas de pacientes hemofílicos que asisten al Banco Nacional De Sangre (Managua), en el periodo comprendido entre el año 2016 - 2018*. UNAN-Managua.
- Nieves, R. M., & tavera, j. (2005). Clasificacion de la hemofilia en el registro Nacional. *Sociedad y Ciencia*, 3(30), 1. Obtenido de <https://pdfs.semanticscholar.org/70ba/3c7cd7d21aed7b00baa516239f0af1a466c5.pdf>

- Peralta, O. A., Rojas, B. P., & Sáenz, S. S. (2022). *Comportamiento clínico y radiológico de la artropatía hemofílica en pacientes atendidos en Consulta externa del Hospital España-Chinandega febrero-octubre 2022*. UNAN-León.
- Romero, J. (29 de Diciembre de 2021). *Sociedad Española de Medicina de Laboratorio*. Obtenido de Cascada de coagulación : <https://www.labtestsonline.es/tests/cascada-de-coagulacion>
- Sánchez, M. R., & Rodríguez, S. V. (2019). *Perfil clínico epidemiológico de la hemofilia en Hospital de ESSALUD del nivel III de atención Trujillo, 2008 al 2018*. Universidad César Vallejo.
- SPINREACT . (2012). *Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (APTT)*. SPINREACT.
- SPINREACT. (2015). *Fibrinógeno por el Método de Clauss*. SPINREACT.
- SPINREACT. (2016). *Determinación del Tiempo de Protrombina (PT)*. SPINREACT.
- Streiff, M. (Septiembre de 2023). *Manual MSD*. Obtenido de <https://www.msdmanuals.com/es/hogar/trastornos-de-la-sangre/trastornos-hemorricos-debidos-a-trastornos-de-la-coagulacion/introduccion-a-los-trastornos-de-la-coagulacion>

VII. Anexos

Anexo A

FIGURA 1A.

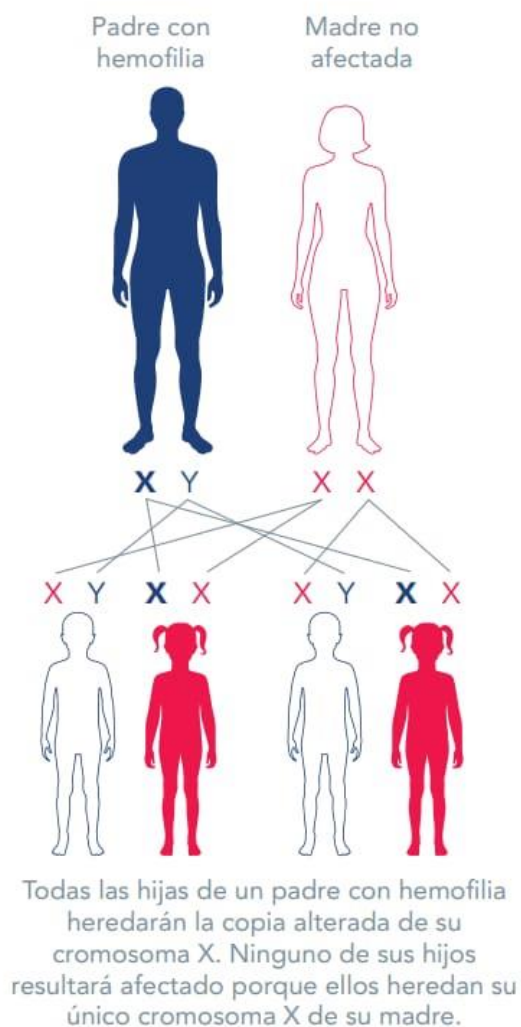
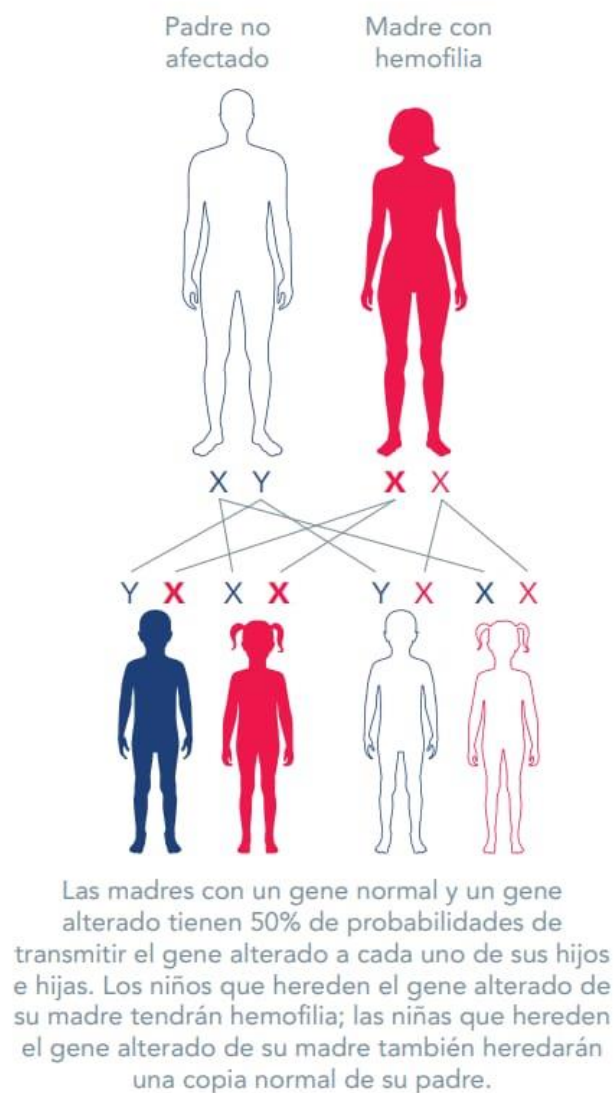


FIGURA 1B



Fuente: (Federacion Mundial de la Hemofilia , 2020)

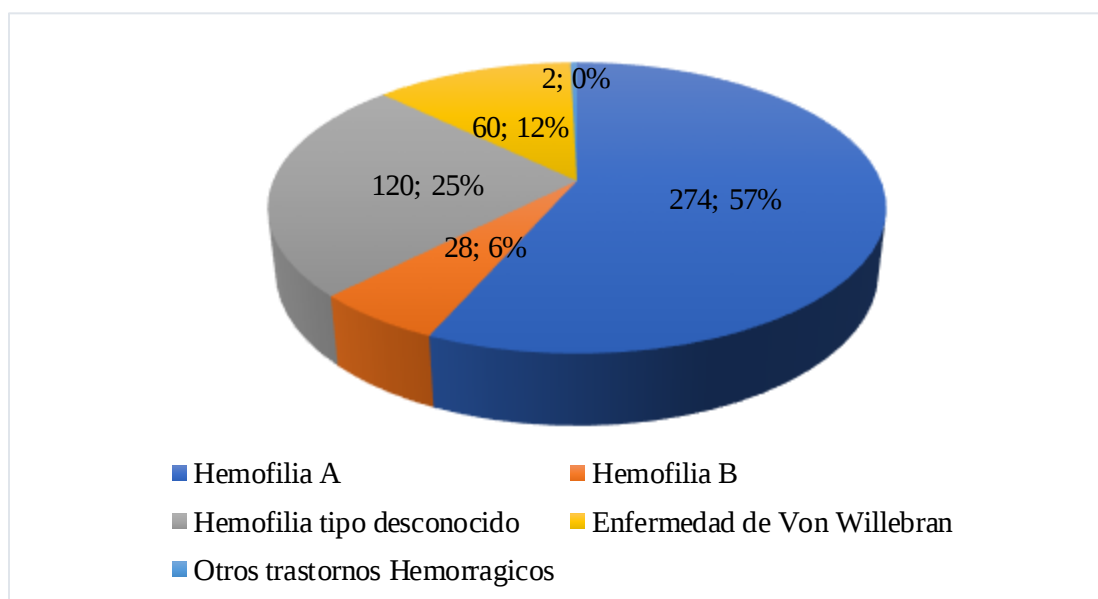
Anexo B: Hemorragias

Las hemorragias ocurren más frecuentemente dentro de estas articulaciones o músculos



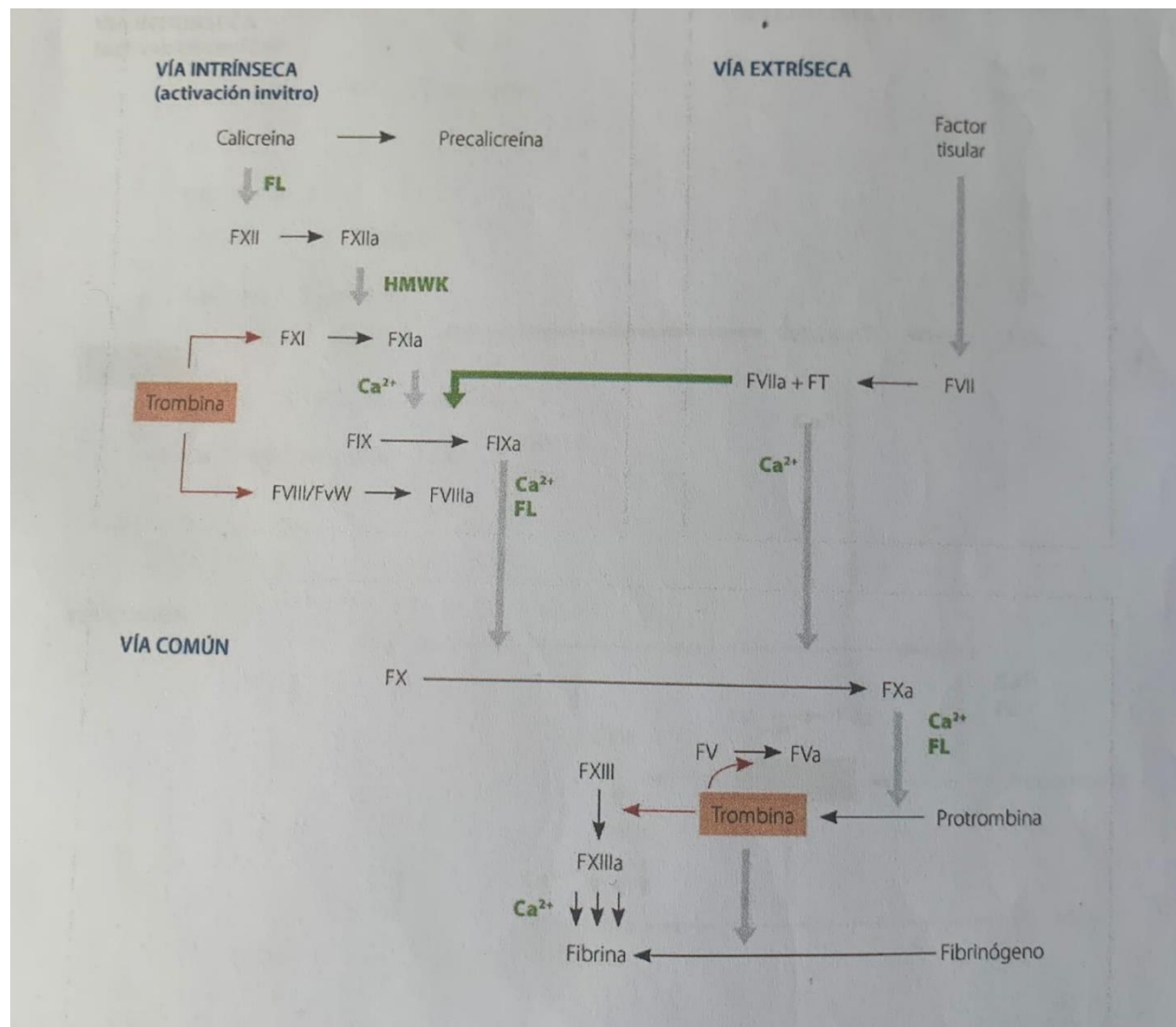
Fuente: (Federacion Mundial de la Hemofilia , 2020)

Anexo C: Distribución de los trastornos hemorrágicos - Nicaragua 2020



Fuente: (Federación Mundial de la Hemofilia , 2021)

Anexo D: Cascada de coagulación



Fuente: (Boza, 2016, pág. 150)

Anexo E: Vida media de los factores y proteínas que participan en la cascada de la coagulación y en el sistema fibrinolítico.

Vida media de los principales factores y proteínas que participan en la cascada de la coagulación y en el sistema fibrinolítico		
Factor	Nombre	Vida media
Factores de la coagulación		
I	Fibrinógeno	3-5 días
II *	Protrombina	2-3 días
III (FT)	Factor tisular o tromboplastina	
IV	Ca ⁺⁺	
V	Factor lábil	12-15 horas
VII *	Proconvertina	3-6 horas
VIII	Factor antihemofílico A	10-20 horas
IX *	Factor Christmas o factor antihemofílico B	24 horas
X *	Factor Stuart-Power	30-40 horas
XI	Antecedente tromboplastínico	2-3 días
XII	Factor Hageman o factor de contacto	~2 días
XIII	Factor estabilizante de fibrina o factor Laili-Lorand	9-10 días
XIV (HMWK)	Quininógeno de alto peso molecular o factor Fitzgerald-Flaujeac-Williams	6 días
XV (Precalicroína)	Factor Fletcher	35 horas

Factor	Nombre	Vida media
Inhibidores de la coagulación		
PC *	Proteína C	6 horas
PS *	Proteína S	40 horas
AT	Antitrombina	2-5 días
PZ *	Proteína Z	2,5 días
TFPI	Inhibidor de la vía del factor tisular	
Sistema fibrinolítico		
Plasminógeno	Plasminógeno	2 días
Activadores del sistema fibrinolítico		
tPA	Activador tisular del plasminógeno	6 minutos
uPA	Activador urinario del plasminógeno o urokinasa	6 minutos
Inhibidores del sistema fibrinolítico		
α ₂ -antiplasmina	Alfa-2-antiplasmina	3 días
PAI	Inhibidor del activador del plasminógeno	6 minutos
TAFI	Inhibidor de la fibrina activable por trombina	12 minutos

* Dependiente de Vitamina K.

Fuente: (Boza, 2016, pág. 152)

Anexo F: Desplasmatizador.

Fuente: (Banco Nacional de sangre, 2024)

Anexo G: Cortador de segmento, pocillo para calibrar centrifuga

Fuente: (Banco Nacional de sangre, 2024)

Anexos H: Centrifugas



Fuente: (Banco Nacional de sangre, 2024)

Anexo I: Indicaciones para la transfusión.

MINISTERIO DE SALUD ANEXO 13 INDICACIONES PARA LA TRANSFUSIÓN		
COMPONENTES	INDICACIÓN	CONTRAINDICACIONES
Sangre total	Aumento de glóbulos rojos y volumen Plasmático. 1. Sangrado agudo con hipovolemia. 2. Exangüineotransfusión. 3. Transfusión masiva. 4. Cirugía cardiovascular.	Uso para reemplazar solo volumen (Ej. Cólera). Corrección de anemia en pacientes normovolémicos. Uso en sujetos que toleran volumen. Uso excesivo (causa dilución de factores coagulantes y plaquetas).
Paquete globular	Anemia crónica normovolémica estabilizada sintomática. Evitar sobrecarga de volumen. Manejo inicial de la hemorragia aguda.	
Glóbulos rojos lavados	Reacciones alérgicas (Deficiencia de Inmunoglobulina A). Algunas anemias hemolíticas (Ej. Hemoglobinuria paroxística nocturna). Insuficiencia renal con hiperkalemia.	Riesgo de contaminación. No proviene enfermedad injerto versus huésped.
Glóbulos rojos irradiados	Inmunosuprimidos. Neonatos. Previene enfermedades Injerto versus Huésped (GVHD).	Hiperkalemia. La irradiación debe ser homogénea.
Glóbulos rojos leucoreducidos	Reacciones febriles. Prevenir sensibilidad por antígenos de Histocompatibilidad. Prevenir infecciones por citomegalovirus, virus linfotrópico humano.	No previene GVHD. Considerar pérdida de 5-10% de hematíes.
Plaquetas (simples o por aféresis)	Trombocitopenia no inmune. Trombopatías.	Púrpura trombocitopénica trombótica autoinmune, trombocitopenia inducida por fármacos, sepsis, hipersplenismo en pacientes sin sangrado. Coagulación Intravascular Diseminada sin tratamiento.
Plaquetas leucoreducidas	Las mismas que para glóbulos rojos leucoreducidos.	Contraindicaciones en situaciones que determinen refractariedad temprana (Púrpura trombocitopénica idiopática).
Granulocitos Citomegalovirus.	Pacientes con sepsis y neutropenia severa	Aloinmunización, reacción febril GVHD.
Plasma fresco congelado	Déficit de factores de coagulación plasmáticos lábiles y estables. Hipoproteínemia. Reversión de efectos de fármacos cumarínicos. Reemplazo de antitrombina III.	Uso en hipovolemia (mejor usar otros coloides por riesgo de complicaciones). Uso como nutriente. Uso como soporte de inmunoglobulinas. Uso para cicatrizar heridas.
Plasma conservado o residual	Hipoproteínemia. Déficit de factores de coagulación no lábiles.	Hipoproteínemia.
Crioprecipitado	Déficit de factor VIII. Enfermedad de Von Willebrand. Estados de hipofibrinogenemia severa (Coagulación Intravascular Diseminada).	Hiperfibrinogenemia. Infusión de antígenos, ABO compatibles. Las mismas de Plasma Fresco Congelado.

Fuente: (Ministerio de Salud, 2002, pág. 135)

Anexos J: Hoja de monitoreo de transfusiones.

ESTÁNDARES DE MEDICINA TRANSFUSIONAL

MINISTERIO DE SALUD
ANEXO 11
HOJA DE MONITOREO DE TRANSFUSIONES

Unidad de Salud: _____ Departamento: _____

Código de Bolsa: _____ Componente: ST PG PFC PLQ CRIO

Nombres y Apellidos: _____ No. Expediente: _____

Edad: _____ Peso: _____ Talla: _____ Sexo: M ☐ F ☐ Grupo sanguíneo del paciente: _____

ANTECEDENTES TRANSFUSIONALES

Fecha	Lugar	Unidades	Componentes	Reacciones Adversas	Observaciones

MONITOREO DE LA TRANSFUSIÓN

Fecha: _____

Hora de inicio: _____ Hora de término: _____ Cantidad: _____ ml/unidades

Parámetros	Inicio	5 min	30 min	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas
Presión Arterial							
Frecuencia del pulso							
Respiraciones							
Temperatura							
Cianosis							
Sangrado							
Plaquetas							
Volumen de sangrado							

ESTADO CLÍNICO

De conciencia

Conciente ☐ Somnoliento o Desorientado ☐ Coma ☐

Cardiovascular:

☐ Normal ☐ Infarto miocárdico agudo ☐ Hipertensión Arterial ☐ Valvulopatía ☐ Angina

Pulmonar:

☐ Normal ☐ Enfermedad parenquimal pulmonar ☐ Asma ☐ Enfermedad pulmonar obstructiva crónica

REACCIONES ADVERSAS

Dolor subesternal ☐ Dolor perfusión ☐ Escalofríos ☐ Fiebre ☐ Otros ☐

Hemoglobinuria ☐ Desasosiego ☐ Hipotensión ☐ Vómitos ☐ Especifiquen: ☐

Sangrado en capa ☐ Urticaria ☐ Disnea ☐

Firma: _____ Código: _____

Médico responsable: _____

Nota: Esta hoja debe anexarse al expediente del paciente.

◆ (133/164)

Fuente: (Ministerio de Salud, 2002, pág. 133)



¡Universidad del Pueblo y para el Pueblo!

