**UNIDAD 3**: Estudio de los Leucocitos.

**Objetivos particulares:**

Identificar la función de los diferentes tipos de leucocitos, los principios en que se fundamentan los procedicimientos técnicos para el estudio de estos y las causas que originan las principales fuentes de error.

**Sistema de conocimientos**

3.1- Leucopoyesis. Tipos de leucocitos. Propiedades y funciones.

3.2- Concentraciones de los leucocitos en la sangre.

3.3- Procedimientos para los conteos global y diferencial de leucocitos. Principales fuentes de error. Variaciones fisiopatológicas.

**Sistema habilidades:**

Identifica los principios en que se fundamentan los procedicimientos técnicos para el estudio de los leucocitos y las causas que originan las principales fuentes de error.

Describe la función de los diferentes tipos de leucocitos.

Realiza conteo global y diferencial de leucocitos.

**Indicaciones metodologìca y de organizaciòn del tema.**

Se debe comenzar el tema recordando las series hemáticas a las que pertencen los leucocitos, destacando las funciones y las características morfológicas y tintoreales de las diferentes variedades que normalmente aparecen en sangre periférica.

Se debe hacer referencia que además de las células normales en periferia tambien se pueden observar en determinadas situaciones células inmaduras y/o alteraciones morfológicas de los leucocitos.

Al tratar el tema del conteo global de los leucocitos se debe destacar la importancia de la realización de diluciones exactas en los procedimientos técnicos, distinguiéndose las ventajas y desventajas de los métodos ópticos y automatizados así como las principales fuentes de error, se abordará tambien el conteo absoluto de los leucocitos como es el caso del conteo de eosinófilos específicamente por su utilidad en los procesos alérgicos o parasitarios.

**UNIDAD 4:**  Hemostasia.

**Objetivos particulares:**

Identificar las caracteristicas morfológicas y tintoreales de las plaquetas, así como los principios en que se fundamentan los procedicimientos para su estudio y del proceso de la hemostasia.

**Sistema de conocimientos**

4.1- Megacariopoyesis. Plaquetas. Propiedades y funciones.

4.2- Hemostasia.Concepto. Fases. Estudio de la hemostasia primaria. Papel de las plaquetas

en la hemostasia.

4.3- Procedimientos para el recuentos de plaquetas por métodos ópticos y automatizados. Principios, ventajas y desventajas. Fuentes de error. Valores de referencia y valor diagnóstico.

4.4- Estudio de la hemostasia secundaria. Factores de la coagulación.

4.5- Fibrinolísis. Concepto.

4.6- Enfermedades hemorrágicas. Conceptos y causas.

**Sistema habilidades:**

Identifica los principios en que se fundamentan los procedicimientos para el estudio de las plaquetas y el proceso de la hemostasia.

Describe la función de las plaquetas.

Realiza frotis sanguíneo para el estudio cualitativo de las plaquetas.

Realiza procedimientos para el conteo de plaquetas por el método de Brecher.

Realiza el coagulograma completo.

**Indicaciones metodologìca y de organizaciòn del tema.**

Se debe comenzar el tema recordando la serie hemáticas a la que pertencen las plaquetas, profundizando en las funciones y las características morfológicas y tintoreales de estas.

Al tratar los procedimientos para el estudio de rutina de las plaquetas se debe hacer enfasis en la importancia de la toma de muestra y en los requsitos establecidos para la misma.

Al abordar el tema de la Hemostasia se explicará el concepto y los mecanismos de la misma, señalando dos fases: la Hemostasia primaria, secundaria y la fibrinolisis. Se explicarán las vías intrínseca y extrínseca de la coagulación, mencionando los factores de la coagulación que intervienen en cada una y los aspectos fundamentales del mecanismo de la fibrinolísis.

Se deben exponer las enfermedades hemorrágicas relacionándole a los estudiantes que generalmente las mismas conyevan a terapia transfusional y la importancia del conocimiento de las mismas por parte de los técnico que laboran en estos servicios.

En esta unidad, el estudiante solo realizará el conteo de plaquetas, dejando las otras pruebas del estudio de la hemostasia para ejercitarlas en el área asistencial, orientación que se realizará en la educación en el trabajo o práctica laboral investigativa que realiza el estudiante.

**BIBLIOGRAFÍA**

* Colectivo de autores. Selección de temas de Medicina Transfusional. La Habana, 2017
* Colectivo de autores.Selección de temas para la formacion del Tecnico de Laboratorio Clinico.
* Cruz, C.y col. Temas de Laboratorio Clínico. La Habana, 2006.
* Vives Correas J.A. Aguilar Bascomple J.L. Manual de Técnicos de Laboratorio en Hematología. Barcelona Silvat. 1988 (475 Pág.).
* Ruiz Argüelles G. J. Fundamentos de Hematología. 2da Edición. Editorial Medicina Panamericana 1998.
* Kordich L. C. Linchez J.C. De Campos. C. Manual de Hemostasia t Trombosis, Grupo CLAHT. 2da Edición. Argentina 1990.
* Davinnson J. B. Henry. Diagnóstico Clínico para el Laboratorio, 6ta Edición. Española 1962.

**Desarrollo**

Las células formadoras de colonias granulocíticas- monocíticas (UFC-GM) constituyen las primeras células, identificadas en cultivos medulares, con la habilidad para formar colonias en presencia de factores estimuladores del crecimiento.

**Origen de los Leucocitos.**

Las propiedades que definen a la célula totipotencial hematopoyética (CTH) son su capacidad de auto duplicación, la que resulta en progenies con las mismas características de la CTH primitiva, unidad formadora de colonias de Blastos (UFC-Bl), y la de dar origen a todos los elementos formes sanguíneos, que incluyen los de la serie Mieloide como los Eritrocitos, Neutrófilos, Eosinófilos, Basófilos, Monolitos y plaquetas, así como linfocitos T y B y células plasmática de linaje linfoide.

**Secuencia de maduración de la serie granulocítica:**

Mieloblasto=Promielocito=Mielocito=Metamielocito=Stabk o banda=Segmentado.

**Función de los Leucocito:**

Los leucocitos son células altamente especializadas en proteger el organismo contra los agentes microbianos por medio de la fagocitosis y la digestión. Elaboran enzimas con propiedades bactericidas, que son capaces de actuar además sobre los tejidos, contribuyendo a la disolución de los infiltrados y a la formación del material purulento. Poseen las enzimas que intervienen en la actividad energética del elemento celular y otras como: Fosfatasas, esterasas, que participan en las funciones bacterianas de ellos.

**Propiedades de los leucocitos:**

1. Quimiotaxia: Es la atracción o repulsión que muestran los leucocitos por algunos elementos o sustancias.
2. Diapédesis: Es el paso de los leucocitos a través de las paredes de los capilares, es facilitado por la permeabilidad vascular, la cual aumenta en los lugares necesarios.
3. Movimiento ameboideo: Es la traslación por movimientos propios de los neutrófilos. Este movimiento lo realizan emitiendo prolongaciones protoplasmáticas, llamadas seudópodos, y les permiten trasladarse a través de los tejidos.
4. Fagocitosis: Mediante este mecanismo los leucocitos engloban y destruyen las bacterias, restos celulares o partículas inertes. La fagocitosis comprende diferentes fases; Contacto, absorción, englobamiento y digestión intracelular.

**Alteraciones cuantitativas.**

Los leucocitos normalmente presentes en la sangre periférica corresponden a seis variedades fácilmente diferenciables, cuyas características morfológicas fueron estudiadas por ustedes en años anteriores. Para determinar el grado de alteración cuantitativas se desarrolló una formula leucocitaria de referencia y conteo global de leucocitos, que según la desviación del valor dado como resultado del estudio en el paciente recibirá una terminología.

**Fórmula leucocitaria en el adulto:**

Neutrófilos de 055 a 065. Sí están disminuidos se les llama Neutropenia.

 Sí están aumentados se les llama Neutrofilia.

Linfocitos de 025 a 040. Sí están disminuidos se les llama Linfopenia.

 Sí están aumentados se les llama Linfocitosis.

Eosinófilos de 001 a 004. Sí están disminuidos se les llama Eosinopenia.

 Sí están aumentados se les llama Eosinofilia.

Monocitos de 001 a 008. Sí están disminuidos se les llama Monocitopenia.

 Sí están aumentados se les llama Monocitosis.

Stabk de 000 a 003. Sí están aumentados se dice que hay una desviación a la izquierda.

Basófilos de 000 a 001 Sí están disminuidos se les llama Basofilopenia.

 Sí están aumentados se les llama Basofilia.

**Variaciones en el conteo y en la fórmula leucocitaria.**

La fórmula leucocitaria y el conteo pueden sufrir variaciones fisiológicas, principalmente en el recién nacido, pues en el primer día existe una leucocitosis que alcanza cifras de 20 000 leucocitos por mm cúbicos acompañados de una desviación a la izquierda con presencia de mielocitos. Rápidamente se produce una inversión, de manera que al final de la segunda semana existe alrededor de un 025 % de Neutrófilos y un 065 % de Linfocitos. A partir de esa fecha, comienza una inversión lenta y progresiva, las proporciones quedan igualadas a los 3 o 4 años y se alcanzan los valores de referencias en la pubertad de 10 a 12 años.

En cuanto al horario también se ven variaciones, pues existe un aumento de neutrófilos durante el día y una leucocitosis con linfocitos y eosinófilos durante el sueño. Son citados además los ejercicios agobiantes, el embarazo, la anoxia, la administración de algunos fármacos como la adrenalina, el calor, la ingestión de grasas y la esplenectomia.

Las causas de las variaciones patológicas son múltiples. Algunas de ellas están dadas por alteraciones propias de los órganos hemoformadores, leucosis, agranulocitosis, aplasia, o del organismo en general, como son las enfermedades infecciosas, inflamatorias, degenerativas, carenciales, alérgicas, tumorales y otras.

**Variaciones cualitativas:**

 Fundamentalmente estas alteraciones están relacionadas con las características morfológicas de las células en relación con el núcleo o el citoplasma.

1. Anomalías de Pelger-Huët: Disminución o ausencia de la segmentación nuclear en los neutrófilos, las cuales no presentan alteraciones funcionales.
2. Pseudopelger adquirido: Generalmente bilobulado, se presentan en infecciones agudas, leucosis, mielofibrosis, Síndromes mieloproliferativos y dismielopoyéticos.
3. Hipersegmentación de los neutrófilos: Hereditaria (80 % de neutrófilos con 4 o 5 lobulaciones, no asociado a enfermedades clínicas). Y la adquirida aumento de las lobulaciones nucleares asociados a macrocitosis periférica.
4. Hipersegmentación de los Eosinófilos: Trastornos hereditarios donde se observan aumentos de las lobulaciones de los eosinófilos sin estar asociado a patologías clínicas.
5. Pseudo maduración degenerativa: Núcleo lobulado con cromatina inmadura, masa nuclear aumentada con respecto al citoplasma.
6. Granulaciones tóxicas: gránulos que contienen enzimas anormalmente activadas.
7. Vacuolización tóxica: Vacuolas en el citoplasma de neutrófilos y monocitos.
8. Cuerpos de Döhle: Masa de ARN persistente en el citoplasma de color azul pálido.
9. Bastones de Auer: Cuerpos alargados de color rojo en el citoplasma de granulocitos y monocitos. Constituyen agregados de lisosomas.
10. Anomalías de Alder-Reilly: Granulaciones azulófilas groseras parecidas a los gránulos tóxicos. Afecta a todas las células.
11. Anomalía de Chediak-Higashi: Granulaciones azulófilas gigante en neutrófilos, linfocitos y monocitos. Neutropenia con trastornos en su función e infecciones recurrentes.
12. Anomalías de May-Hegglin: Inclusiones de color azul pálido que constituyen residuos de ARN. Plaquetas grandes y leucopenia.

**Métodos para su estudio.**

**Recuento Global de Leucocitos.**

**Fundamento:**

El recuento leucocitario es un proceder importante en el diagnóstico y pronóstico de las enfermedades. Patrones específicos de respuesta pueden ser esperados en los distintos tipos de patologías. Es conocido que ciertas enfermedades se acompañan del incremento o la disminución de un tipo leucocitario que es proporcional a la severidad de los signos y síntomas de la enfermedad.

Debido a que los leucocitos son afectados por numerosas entidades morbosas, el conteo global de leucocitos sirve como una guía útil de la severidad de la enfermedad.

Al extraer la sangre venosa con un anticoagulante y ser diluida con un ácido débil, los hematies se destruyen quedando exclusivamente los leucocitos y de esta forma se efectúa con facilidad el recuento de estos.

**Procedimiento: (Dilución en tubo):**

Diluir en 1 ml de ácido acético al 2%, 0.02 ml de sangre total. Mezclar bien, llenar la cámara de Neubawer y se procede a realizar el conteo de leucocitos en los cuatro grandes cuadrantes de los ángulos, que contienen 16 cuadrados, con un lente objetivo de 20 y un ocular de 10.El recuento se comenzará por el último cuadrado de la hilera superior, incluyendo la línea divisoria de la derecha y arriba.

**Cálculos:**

 A) Cálculos para dilución en Pipeta de Thomas:

 Leucocitos/mm³ = sume de leucos contados x 10 x 20

 4

donde:

4) son los mm² contados y es el divisor,puede buscarse el promedio que hay en un mm².

10) es el factor para convertir la altura del cubreobjeto (0,1mm) en 1 mm para informar los resultados en mm³.

20) es la dilución de la sangre (Pipeta de Thomas).

Simplificado: 10 x 20 = 50

 4

Cálculos para la dilución en tubo:

10 x 50 = 125

 4

 50) es la dilución en tubo. (0,02ml de sangre/1ml de ácido acético(2%).

 Valores de referencia:

4a 11 x 109/L

CONTROL de CALIDAD

Introducción de muestras duplicadas a ciegas.(Repetibilidad)

Correlación intra e intersección(Repetibilidad)

**Materiales Requeridos:**

Pipeta de Shalí

Pipeta de 1ml o Dispensador

Tubos de 12x75mm

## Cámara de Neubauer

## Tabuladora de células

Microscopio Óptico

## **Semiología:Leucocitosis (conteo leucocitario superior a 10x 109 /L)**

1-La leucocitosis es generalmente debida al aumento de un tipo específico de leucocito, confiriéndole el nombre del tipo de célula blanca que muestra el principal incremento.

2-Un aumento en los leucocitos circulantes es raro que se produzca a consecuencia de un aumento proporcional de los diferentes tipos de leucocitos. Cuando esto ocurre, es generalmente debido a hemoconcentración

3-La leucocitosis ocurre en infecciones agudas en las cuales el grado de aumento de las células blancas depende de :

La severidad de la infección

 La resistencia del paciente

 La edad del paciente

 La reserva y eficiencia medular

4- Otras causas de leucocitosis incluye:

Hemorragia

1. Trauma o daño tisular postquirúrgico
2. Cáncer, especialmente del tractus gastroentestinal ,hígado ,hueso y metástasis
3. Toxinas, uremia, coma, eclampsia,
4. Drogas, especialmente el éter, chloroform, quinine, adrenalin, factores estimuladores de colonia.
5. Enfermedad del suero
6. Enfermedades circulatorias
7. Inflamación y necrosis de tejido
8. Leucemia (en la leucemia aguda se produce un aumento en el número de leucocitos con una disminución en las células de aspecto normal.

5- Ocasionalmente se detecta leucocitosis sin evidencias clínicas de enfermedad.

 Tales hallazgos sugieren la presencia de uno de los estados siguientes:

1. Enfermedad oculta.
2. Leucocitosis fisiológica debida a excitación ,ejercicio, dolor , frío , anestesia

6- Desórdenes hematológicos; recuperación de la depresión medular, hemólisis, esplenectomía, desórdenes mieloproliferativos.

7- Hábito de fumar

**Leucopenia** (disminución en el número de leucocitos por debajo de 4x 10 9/l )

Ocurre durante y subsiguiente a:

1. Infecciones virales

2. Hiperesplenismo

3. Depresión de la médula ósea debida a:

a) Drogas:

b)Metales pesados

c)Radiaciones

4. Desórdenes primarios de la médula ósea

 a) Leucemia

 b)Mieloma

 c)Anemia aplástica

d)Síndromes mielodisplásticos

5- Enfermedades que ocupan médula: infecciones por hongos, tumores metastásicos.

**Conteo Diferencial de Leucocitos.**

Fundamento:

Los leucocitos circulantes se diferencian en cinco tipos celulares, cada uno de los cuales desempeña una función específica

Célula / Función

## Neutrófilos / Infecciones piógenas

Eosinófilos /Desórdenes alérgicos e infestaciones parasitarias

Basófilos / Infecciones parasitarias

Linfocitos/ Infecciones virales (sarampión rubeóla, Mononucleosis infecciosa)

Monocitos/ Infecciones severas, por fagocitosis

**Procedimiento:**

* Realizar frotis sanguíneo.Secar rápido para mantener la forma de los hematíes.
* Fijar el extendido,con el objetivo de conservar el protoplasma celular con el menor grado de alteración en comparación con la célula viva (puede realizarse con metanol,mezcla de alcohol metílico-acetona a partes iguales,etanol absoluto,etc).
* Proceder finalmente a la coloración con Giemsa:

 1 gota de Giemsa/ml de sangre ~ 30 mints

 2 gota de Giemsa/ml de sangre ~ 20 mints

* Lavar con agua corriente,secar,quedan listos para ser examinados.
* Consiste en contar 100 células por lo menos,procediendo a su clasificación para determinar el porcentaje de cada variedad en la sangre periférica.

Causas más frecuentes:

1. Infecciones agudas bacterianas.
2. Toxemias, acidosis.
3. Envenenamiento por productos químicos: Plomo, mercurio. Etc.
4. Trastornos hemorrágicos: Úlcera, péptica, embarazo ectópico, etc.
5. Enfermedades hematológicas Anemias hemolíticas, leucemias, eritroleucemias. Etc.
6. Otras causas: Trombosis coronaria.

**Reacción leucemoide.**

Es una elevación del conteo global de leucocitos por encima de50x10´9/L.

La neutrofílica es la más común y se caracteriza por un aumento significativo de los precursores neutrofílicos en sangre periférica, el conteo diferencial tiene una marcada desviación a la izquierda, se observan promielocitos y blastos en las reacciones severas. Debe realizarse el diagnóstico diferencial con la leucosis mieloide crónica (LMC).

Causas:

1. Sepsis bacteriana.
2. Quemaduras graves.
3. Eclampsias.
4. Reacción hemolítica.
5. Intoxicación.
6. Linfomas agudos.
7. Carcinomas con metástasis.

**Conteo Global de Eosinófilos.**

**Fundamento:**

Al extraer la sangre y ser tratada con un colorante específico (eosina) aparecen coloreados en rojo los gránulos citoplasmáticos de los eosinófilos,no ocurriendo así con otras variedades de leucocitos,lo que permite el conteo absoluto de los mismos.

**Procedimiento:**

En un tubo de ensayo de 12 x 75 añadir , 0,4 ml de diluyente (eosina), 0,02 ml de sangre (capilar o venosa) tratada con anticoagulante con menos de una hora de extraída con una pipeta de Sahli (título de dilución 1:20).

1. Mezclar bien y dejar en reposo de 15 mints a 1 h para que se coloreen los gránulos citoplasmáticos.
2. Montar la cámara de neubawer y colocarla en un cámara húmeda durante 10 min.
3. Se realiza el conteo en los cuatros grandes cuadrantes de las esquinas con objetivo y ocular de 10.

**Cálculos:**

 Conteo de

CGE = eosinófilos x 10 x 20

 4

CGE) Conteo global de eosinófilos.

10) Es el factor para convertir la altura del cubreobjeto (0,1mm) en 1mm para informar los resultados en mm³.

4) Son los mm² contados y es el divisor,puede buscarse el promedio que hay en un mm².

20) Es la dilución de la sangre.

**Valores de referencias:**

 0,05 - 0,5 x 109 /l

**INTRODUCCIÓN A LA HEMOSTASIA**

Las pruebas de laboratorio para estudiar pacientes con trastornos en la hemostasia que conducen a hemorragias o trombosis, se han desarrollado de manera considerable. Varios han sido los factores claves:

1. La introducción de nuevas tecnologías que utilizan sustratos sintéticos con elevada sensibilidad y especificidad para medir la actividad de enzima involucrada en los diferentes procesos de la hemostasia (activación e inhibición de la coagulación y fibrinólisis).

2. La aplicación de técnicas inmunoquímicas que permiten medir, con alta sensibilidad, la concentración de proteínas y productos de reacciones en la hemostasia

3. La citometría de flujo, para medir proteínas o complejos de proteínas integrados a células en reposo o activadas.

4. Los estudios de ADN y ARN, para detectar modificaciones del genoma que se traducen en alteraciones de la hemostasia.

5. La automatización y estandarización de diferentes procedimientos que incluyen las pruebas clásicas, como el tiempo de protrombina (TP), tiempo de tromboplastina parcial activado (TPTA), dosificación de fibrinógeno (Fg) y tiempo de sangrado (TS), y las pruebas especiales, así como la estandarización del proceso preanalítico (obtención, preparación y conservación de las muestras) y del reporte de los resultados.

**ASPECTOS PREANALÍTICOS GENERALES**

Los estudios de la hemostasia se realizan en muestras de sangre anticoaguladas con citrato de sodio a una concentración de 0,109 mol/L, excepto para las pruebas de función plaquetaria, en que se recomienda una concentración de 0,129 mol/L. La relación anticoagulante/ sangre es de 9 partes de sangre y 1 parte de anticoagulante. La sangre debe ser obtenida de una vena, con jeringuilla plástica. Se recomienda que la sangre para estudios de la hemostasia se obtenga en el proceso de extracción, para el que se debe utilizar una segunda jeringuilla. Es importante ocasionar el mínimo de estasis venoso durante el proceso, o sea, utilizar solo el torniquete para puncionar la vena o no utilizarlo, si fuera posible. Los materiales empleados para realizar las pruebas: tubos, pipetas, entre otros, deben ser inertes para la activación de la hemostasia; se recomienda que sean de plástico o vidrio recubierto con silicona. Por lo general, las pruebas se hacen sobre la sangre total o sobre plasma. Este puede ser rico en plaquetas (PRP) o pobre en plaquetas (PPP), para lo que la sangre se centrifuga a bajas revoluciones por minuto por corto tiempo para el primero, y a elevadas revoluciones por mayor tiempo para obtener el segundo. La centrifugación debe realizarse de forma rápida (antes de la hora de extraída la muestra) y los tubos deben estar tapados hasta que la muestra sea analizada. El PPP se puede conservar, de forma general, por períodos largos a -20 0C. En los resultados de estos exámenes influyen muchos factores preanalíticos, además de los mencionados: el tiempo desde que se extrae la muestra hasta que se centrifuga y hasta que se realiza la prueba, la temperatura de conservación, así como los medicamentos que interfieren o afectan diferentes pruebas (la aspirina en los estudios de función plaquetaria). Todos ellos se deben tener en consideración cuando se va ha para estandarizar todos estos factores, de forma que las influencias sobre los componentes de la hemostasia que se miden, sean lo más semejantes posible.

**DESARROLLO:**

**MECANISMOS DE LA HEMOSTASIA**

La hemostasia es un mecanismo de defensa que funciona estrechamente vinculado con los procesos de reparación hística (inflamación y regeneración hística), y protege la integridad del sistema vascular. Es un proceso complejo, en el que intervienen componentes celulares y plasmáticos con actividades procoagulante y anticoagulante, que interaccionan de forma continua desde que se lesiona el endotelio de un vaso sanguíneo.

**Hemostasia:**

La hemostasia comprende todos los mecanismos fisiológicos que previenen y detienen la hemorragia, así como restaurar el flujo circulatorio.

La hemostasia comprende 3 etapas coordinadas en estrecha relación.
 1- Hemostasia primaria.

1. Hemostasia secundaria (coagulación)
2. Fibrinolísis

Los sistemas implicados en los mecanismos hemostáticos mantienen un equilibrio entre los factores procoagulantes y anticoagulantes de la sangre, bajo estas condiciones la sangre circulará por los vasos sanguíneos, mientras que su alteración puede provocar cuadros hemorrágicos o tromboembólicas.

**Principales componentes del sistema hemostático.**

* + - Vascular
		- Plaquetario
		- Hemodinámico
		- Proceso de la coagulación
		- Fibrinolítico.

**La hemostasia consta de 4 fases:**

* + - Vasoconstricción en el área afectada
		- Formación del trombo de plaquetas sobre la superficie vascular lesionada (Hemostasia primaria)
		- Coagulación, formación del trombo de fibrina
		- Eliminación de los depósitos de fibrina o Fibrinolísis

Las plaquetas o trombocitos están distribuidos 2/3 en la circulación y 1/3 en el bazo u otro sitios extravasculares y tienen una vida media de 7 a 11 días desempeñando funciones muy importantes en la hemostasia primaria.

Factor Plasmático. Está constituido fundamentalmente por proteínas plasmáticas que circulan en forma inactiva y que son las siguientes:

 I Fibrinógeno IX Factor Antihemofilico B o Christmas

 II Protombina X Stuart Power

 III Tromboplastina XII Antecedente Tromboplastínico del Plasma

 IV Iones de Calcio XIII F. Estabilizador de la Fibrina

 V Proacelerina Factor Fitzgerald (KAPM )

 VII Proconvertina Factor Flecher (Precalicreína )

 VIII Factor Antihemofílico A Proteína C Proteína S

Factor VIII Von Willebrand(FVW) Factor VIII Ag.reacción inmunitaria VIIIc acción procoagulante

**Pruebas que miden la Hemostasia Primaria y Secundaria**

**Hemostasia Primaria**

* Prueba del Lazo
* Tiempo de Sangramiento
* Conteo de Plaquetas
* Retracción del coágulo
* Evaluación de las plaquetas en sangre periférica

**Hemostasia Secundaria**

* Tiempo de Coagulación
* Tiempo de Protrombina
* TPT Kaolín
* Consumo de Protrombina
* Tiempo de Trombina
* Dosificación de Fibrinógeno
* Dosificación de factores de la coagulación

Para su estudio, se describen 4 fases:

1. Vasoconstricción localizada en el área afectada.

2. Adhesión, activación, liberación y agregación de las plaquetas sobre el sitio de la lesión (hemostasia primaria).

3. Generación de trombina y formación de una red de fibrina que estabiliza el trombo plaquetario (coagulacióno hemostasia secundaria).

4. Eliminación de los depósitos de fibrina (fibrinólisis) y reparación de la pared vascular. Inmediatamente después de una lesión de un vaso sanguíneo tiene lugar una estimulación de las terminaciones simpáticas de la musculatura lisa, por un mecanismo reflejo. Como resultado, ocurre una vasoconstricción rápida que detiene la circulación, y facilita la adhesión y agregación de las plaquetas y la formación de fibrina.

**FIBRINÓLISIS**

El coágulo formado cuando ocurre la lesión vascular debe ser eliminado después que se repara la pared del vaso sanguíneo, este proceso es llamado fibrinólisis. El sistema fibrinolítico o sistema del plasminógeno está formado por un grupo de proteínas proteasas serina en forma inactiva (plasminógeno y activadores del plasminógeno), por inhibidores de proteasas serina (*serpin*) y por receptores celulares. La plasmina es una enzima proteolítica que corta una serie de uniones en la malla de fibrina, y crea unos fragmentos llamados productos de degradación de lafibrina (PDF)). Esta es la enzima clave en este proceso, al igual que la trombina lo es en el proceso de la coagulación. Varios mecanismos conducen a su formación La plasmina no solo degrada a la fibrina y a los factores de la coagulacion también activa metaloproteinasas que degradan la matriz extracelular y participan en la migración celular, la remodelación hística y la angiogénesis. Los factores de la vía intrínseca de la coagulación o factores de contacto (XIIa, calicreína, XIa,) convierten el plasminogéno, que es la forma inactiva, en su forma activa, la plasmina. Esta es la llamada vía intrínseca del sistema del plasminógeno.

**PRUEBAS DE LABORATORIO QUE EXPLORAN LA HEMOSTASIA PRIMARIA**

**Estudios de resistencia capilar. Método del Lazo o Rumpel Leede.** Se somete el sistema vascular, en una zona específica, a una presión positiva (esfigmomanómetro) o negativa (ventosa). Esto provoca estasis o succión durante un período en el que se cuenta el número de petequias que aparecen. Esta prueba **es positiva** en las púrpuras vasculares o angiopáticas, además, en un grupo de enfermedades que se caracterizan por manifestaciones hemorrágicas y por trastornos vasculares sin alteraciones de las plaquetas o de los mecanismos de la coagulación o fibrinólisis; también **es positiva** en trombocitopenias severas y trombopatías.

**Tiempo de sangrado. Método de Ivy.** Se mide el tiempo de sangrado desde que se realiza una herida estándar en la piel del antebrazo, hasta que se detiene la hemorragia. Primero se incrementa la presión vascular a un valor de 40 mmHg en el adulto, con un esfigmomanómetro. Es una prueba muy útil para estudiar pacientes con sospecha de trastornos plaquetarios

o del factor de Von Willebrand. Su normalidad no excluye alteraciones de la hemostasia primaria. No es una prueba útil para evaluar el riesgo de sangrado quirúrgico en pacientes asintomáticos.

**Retracción del coágulo***.* La acción combinada de las plaquetas y la malla de fibrina ocasionan la formación de un coágulo retráctil. Cuando el número de plaquetas o su función están disminuidos o existen trastornos cualitativos o cuantitativos del fibrinógeno, la sangre total sin anticoagulante gelifica en un coágulo cuya capacidad de contraerse está disminuida.

**Recuento de plaquetas.** El número de plaquetas se mide en sangre total anticoagulada. Se utilizan como anticoagulantes: sal disódica, dipotásica o tripotásica del ácido etilendiamino tetraacético (EDTA) a una concentración de 1,5 mg/mL de sangre. Las plaquetas se pueden medir de forma manual con una cámara contadora de células con rayado de Neubauer modificado en un microscopio de contraste de fases, o en un microscopiode campo brillante, previa dilución de la sangre 1/100 enoxalato de amonio al 1 %. Se llena la cámara y despuésde un tiempo en reposo, se realiza el recuento de las células en los cuadrados centrales de ambos lados dela cámara. El número total de células contadas se divide entre 2, y el resultado es el número de plaquetas multiplicado por 109/L. Las plaquetas también se miden conequipos semiautomáticos o automáticos (contadores de células). Estos equipos, además de medir el número de plaquetas, registran otros parámetros con utilidad clínica, como son: el volumen medio de las plaquetas (VPM), los diferentes tamaños de las plaquetas mediante su índice de distribución (IDP) y por medio de histogramas donde se muestran las frecuencias de distribución de los diferentes volúmenes detectados por el equipo, también miden el número de plaquetas en el volumen total de sangre o plaquetocrito (PTC). Estos parámetros son útilespara un análisis integral de las plaquetas circulantes además de su concentración. El número de plaquetas oscila, por lo general, entre 150 y 450 multiplicado por 109/L. Su incremento es nombrado trombocitosis y su disminución, trombocitopenia.

**Conteo de plaquetas**

Son células de aproximadamente 3 mm de diámetro, anucleadas, que se originan de la fragmentación del citoplasma de los megacariocitos maduros, los megacariocitos son las mayores células de la médula ósea, son importante para proteger las superficie vascular y tienen 4 funciones fundamentales intervienen en la hemostasia primaria y participan en la hemostasia secundaria (generación de trombina).

Cuando se activan:

* + 1. **se adhieren** al endotelio dañado a través de receptores, las plaquetas conservan su forma y aspecto original.
		2. **Se activan y agregan** a la zona lesionada cambiando su forma.
		3. **Liberación de distintas sustancias** .gránulos y ATP (necesario como fuente de energía) y serotonina(que produce vasoconstricción ayuda a detener la hemorragia inicial) las plaquetas cambian morfológicamente (menos discordes y más irregulares, ( el acumulo de ADP y de plaquetas irregulares captan nuevas plaquetas de la circulación) .

Su morfología es variable, pero tienden a ser redondeadas con dos porciones bastante bien delimitada: la hialómera y el granulómero.

* + gránulos alfa \*.
	+ Gránulos densos.
	+ Lisosomas.
	+ Microperoxisoma.

Las plaquetas circulan de 7 a 11 días en sangre periférica, en los siguientes compartimentos 2/3 en circulación y 1/3 en el bazo.

--Presentan una membrana trilaminar compuesta por lípidos, carbohidratos, glicoproteínas, fosfatasa ácida y receptores.

--energía plaquetaría derivada del metabolismo de la glucosa y proveída por la glicólisis y el ciclo del ácido tricarboxilo solo una pequeña fracción de la masa plaquetaría es utilizada o consumida en condiciones normales en la hemostasia, el resto es removido al término de su vida por el sistema mononuclear fagocítico.

La producción de plaquetas está aparentemente controlada mediante una actividad humoral (trombopoyetina).

La concentración de plaqueta en sangre oscila entre 150 – 450 x109/l.

La disminución del número de plaquetas estimula la trombogénesis proceso regulado por la TPO.

Además de su principio vasoconstrictor y de ser indispensable para la retracción del coágulo, estos cuerpos proporcionan un factor que inicia la activación de la tromboplastina (3), un agente que acelera la formación de trombina a partir de la protombina (factor plaquetario 1), un agente que acelera la conversión de fibrinógeno en fibrina (factor plaquetario 29, un factor anti heparínico.

**Se utilizan diferentes métodos como.**

- Manuales: Brecher.

--Semiautomáticos contadores celulares.

--Automáticos**: contadores celulares,** además del número de plaquetas, se registran otros parámetros VPM, IDP, PTC.

**Para la realización de esta investigación utilizaremos el método manual por el método de Brecher modificado** que se fundamenta en que a una determinada cantidad de reactivo de oxalato de amonio al 1% se le añade cierta cantidad de sangre capilar, el oxalato lisa los eritrocitos, diluye los leucocitos y deja libre las plaquetas facilitando su recuento.

**Siempre sacar lámina para evaluar cualquier anomalía de la forma, tamaño y de los gránulos.** Se observa al microscopio óptico en una extensión de sangre periférica coloreada con colorante tipo ROMANOUSKY ( wright, giemsa, maygreenwald)

**Nota:** pueden detectarse alteraciones que son útiles para realizar un diagnóstico entre ellas se encuentran las plaquetas alargadas “en cigarro” que se ven en la anomalía de May- Hegglín.

-plaquetas gigantes en la enfermedad de Bernard- Solier y en la PTI.

- alteraciones del color (plaquetas azules) en síndrome mieloproliferativos.

- alteraciones en el tamaño (microplaquetas- macroplaquetas).

- por eso es importante la lámina periférica ya que puede afirmarse que el número es adecuado, cuando se observan en forma de grumos.

El conteo de plaquetas puede afectarse sino existe controles de las diferentes fases del control de la calidad, así la **fase pre analítica** puede estar afectada por factores que dependen del paciente como:

1. medicamentos que consuma que pueden interferir en la prueba

Así como los factores que dependen del laboratorio como:

1-Mala extracción de la muestra por éxtasis venoso prolongado

2-Cristalería con restos de detergente

3-Mala conservación y manejo de las muestras, **la que se utiliza por elección es la sangre total por punción capilar,** se debe limpiar con alcohol al 70% y secar bien, puncionar profundamente (3 mm) aproximadamente) con lanceta desechable y la primera y segunda gota desecharla. Evitar la presión excesiva de la zona.

4-Revisar y exigir la ID para poder controlar los resultados

6-Mantener los equipos microscopios en buen estado

**Materiales: lanceta,** pipetas de Thomas, pipetas serológicas, tubos de ensayo, gradillas, láminas portaobjetos y extensoras, cristalográficos, cámara de Neubauer y la cámara húmeda.

**PNO:** con pipeta de Thomas para eritrocitos hasta la marca 1, preferiblemente de una gota, se completa hasta la marca 101 de la pipeta con oxalato de amonio al 1% se deja en reposo 5 minutos se agita durante igual tiempo y se desechan las 2 primeras gotas. Se llena la cámara de neubauer y se deja en reposo en la cámara húmeda 5-10 minutos. Se cuenta en el cuadriculo central y se multiplica por 100 el resultado obtenido. (Dilución 100 por la altura de la cámara 10).

**Reactivo:** oxalato de amonio al 1%

**Equipo:** microscopio óptico, electrónico y de fluorescencia

En la **fase analítica** debemos tener siempre presente el cuidado de esta fase que nos obliga a:

* las láminas que se hacen deben estar bien limpias, sin grasa y realizar una buena extensión, fina, definiendo bien sus partes
* la pipeta que se utiliza en este método manual es la pipeta de salí que debe estar calibrada , enrasarla bien y limpiarla por fuera
* atemperar los reactivos, fijarse en la fecha de vencimiento, que estén a temperatura ambiente y filtrados
* la cristalería debe estar limpia, seca, a temperatura ambiente y bien calibrada y certificada. Los tubos que se utilizan para echar el reactivo deben ser plásticos o siliconados, para evitar la adhesividad de las plaquetas.
* Las muestras deben estar en las condiciones requeridas con sangre total bien homogenizada
* Respetar los pasos de reposo y realizar el conteo adecuado

En la **fase post analítica** demos tener cuidado en:

* 1. Transcripción de resultados
	2. el análisis de los controles
	3. que el informe se de en las unidades recomendadas
	4. corroborar los resultados con las ID médicas así como las patológicas que puedan constituir un riesgo en la vida del paciente, y que llegue lo antes posible a manos del personal médico.
	5. debo añadir que los valores de referencia de esta determinación son de 150 a 450 x 109/l

Y patológicamente **su disminución** o **trombocitopenia** (Es importante realizar un medulograma, ya que de acuerdo con esta investigación podemos clasificarla en dos grandes grupos, con integridad o con depresión del sistema megacariopoyetico, lo cual tiene implicaciones tanto pronóstico como terapéutica.

Puede aparecer en:

* + - medicamentos tóxicos como los citostáticos
		- por virus como el dengue
		- SIDA
		- Por radiaciones o rayos láser
		- En anemias aplásticas
		- En anemias megaloblásticas
		- **PTI** .: Afección caracterizada por trombocitopenia, megacariocitos normales en la MO y ausencia de otros trastornos trombocitopenicos identificables. Con manifestaciones petequias, gingivorragia, sangramientos viscerales otras.

**Evaluación de las plaquetas en una lámina periférica.** En la lámina periférica es necesario evaluar cualquier alteración cuantitativa de las plaquetas, detectada por una cuenta manual o automatizada. Además, el estudio morfológico permite detectar anomalías de la forma y el tamaño de ellas, de los gránulos o de otras células de la sangre que orientan hacia una enfermedad específica

**Trombocitopenia:** es importante en presencia de esta realizar un medulograma, ya que de acuerdo con esta investigación podemos clasificarla en dos grandes grupos, con integridad o con depresión del sistema megacariopoyetico, lo cual tiene implicaciones tanto pronóstico como terapéutica.

**PRUEBAS DE LABORATORIO QUE EXPLORAN LA HEMOSTASIA**

**SECUNDARIA**

**Tiempo de protrombina (TP).** Evalúa la función de los factores de la vía extrínseca (VII, X, V y II y fibrinógeno). Al PPP descalcificado se le adiciona tromboplastina (factor hístico) y cloruro de calcio, y se mide el tiempo en que se forma el coágulo. Esta prueba se utiliza para controlar el rango terapéutico y la dosis de anticoagulantes orales. Los anticoagulantes orales interfieren la formación de vitamina K en su forma activa y disminuyen los niveles funcionales y antigénicos de los factores de la coagulación II, VII, IX y X. Para utilizar esta prueba con este objetivo se emplea un reactivo (tromboplastina) calibrado. El proceso de calibración implica la determinación del índice de sensibilidad internacional (ISI) de la tromboplastina, para ello se utiliza un reactivo de referencia. El resultado del TP del paciente se expresa en la razón internacional normalizada (INR), mediante la relación entre el TP del paciente en segundos (TPP) y el TP medio de 30 plasmas normales (MNPT), y se emplea como exponente el ISI del reactivo utilizado (TPP/MNPT) ISI. El resultado en la INR disminuye las variaciones que surgen por las diferentes sensibilidades de las tromboplastinas al déficit de los factores, y facilita la interpretación de los resultados obtenidos con diferentes reactivos y en diferentes laboratorios. Todo ello permite un adecuado control analítico del rango terapéutico de los pacientes tratados con anticoagulantes orales. Los resultados del TP para estudiar los factores en otras situaciones clínicas, se expresa en segundos, en porcentaje o en la razón entre el TPP y el TP de un control (mezcla de plasmas normales).

**Tiempo de tromboplastina parcial activado.**

Evalúa los factores de la vía intrínseca y común (XII, XI, precalicreína, kininógeno de alto peso molecular, IX, VIII, X, V, II y fibrinógeno). Es muy sensible para los factores VIII y IX. A un PPP descalcificado se le adicionan fosfolípidos (cefalina), un activador de los factores de contacto (caolín, ácido elágico o celite) y cloruro de calcio, se mide el tiempo en que el plasma coagula, y esta es la expresión de la función de los factores involucrados. En un adulto, el tiempo en segundos está entre 20 y 45 segundos. Es el método utilizado para controlar el rango terapéutico de las heparinas no fraccionadas. Este debe ser establecido para cada laboratorio y se utiliza el valor del TTPA obtenido para el rango de 0,2 a 0,4 U/mL de heparina. Es frecuente que se prolongue en los pacientes con anticoagulante lúpico (AL).

**Tiempo de trombina.** La adición de trombina a un PPP descalcificado evalúa la función del fibrinógeno y la presencia de inhibidores de la fibrina, así como el tipo de heparina.

**Determinación de la concentración de fibrinógeno.**

La adición de una elevada concentración de trombina a un PPP diluido, permite determinar la concentración de fibrinógeno funcional. Se puede medir la concentración antigénica del factor, con los anticuerpos policlonales o monoclonales contra la proteína. Con ambas pruebas se determina si la alteración es cualitativa o cuantitativa.

**PRUEBAS DE LABORATORIO QUE EXPLORAN LA FIBRINÓLISIS**

**Tiempo de lisis del coágulo de sangre total diluida.** Es una pesquisa en la cual la sangre anticoagulada se coagula con trombina y, luego, es diluida, para mantener la proporción de los factores fibrinolíticos y acortar el tiempo de lisis del coágulo. Es una prueba muy inespecífica, que se altera o acorta en estados fibrinolíticos y cuando existe una disminución de la actividad antiplasmínica.

**Tiempo de lisis del coágulo de euglobulinas.** El plasma es mezclado con una solución ácida para precipitar una fracción de este llamada euglobulínica, rica en fibrinógeno, plasminógeno y activadores del plasminógeno, y pobre en inhibidores o antiplasminas. Este precipitado es redisuelto en una solución tampón y luego coagulado por recalcificación. El tiempo de lisis de este coágulo es inversamente proporcional a la actividad fibrinolítica plasmática. Un tiempo acortado indica la presencia de plasmina, de activadores del plasminógeno o ambos.

**Complejos solubles.** Son complejos formados por la unión de fragmentos de la degradación del fibrinógeno y la fibrina, y los monómeros de fibrina. Es un indicador de hipercoagulabilidad e hiperfibrinólisis, y también muestra el grado de inhibición de la acción de la fibrina por los PDF. Se emplean diferentes técnicas, los métodos de gelación o de para coagulación utilizan etanol o sulfato de protamina y se basan en la capacidad de estas sustancias de modificar la solubilidad de los complejos que se agregan o precipitan. Existen métodos de aglutinación que utilizan eritrocitos tanados recubiertos con monómeros de fibrina que aglutinan ante la presencia de complejos solubles. Indica acción trombínica y plasmínica.

**Productos de degradación del fibrinógeno y la fibrina (PDF).** La acción de la plasmina sobre el fibrinógeno y la fibrina provoca una serie de fragmentos normal) que circulan en el plasma del paciente y aglutinan partículas de látex recubiertas con anticuerpos antifibrina. Es un marcador importante de fibrinólisis aumentada, pero no delimita entre un proceso secundario a la generación incrementada de trombina y un proceso primario. Es de utilidad para el diagnóstico de una coagulación intravascular diseminada (CID) y también para diagnosticar procesos trombóticos agudos (tromboembolismo pulmonar (TEP) y trombosis venosa profunda (TVP).

**Dímeros D.** Cuando la fibrina estabilizada por el factor XIII es atacada por la plasmina, libera fragmentos diferentes a los liberados por el fibrinógeno y los monómeros de fibrina (véase el acápite sobre fibrinólisis en hemostasia normal). Se mide, de forma semicuantitativa o cuantitativa, mediante diferentes inmunoensayos (ELISA, nefelometría y látex) que utilizan anticuerpos monoclonales dirigidos contra el dímero D con elevada especificidad. La presencia de D-D es indicativa, en primer lugar, de trombosis (generación de trombina incrementada) y, en segundo lugar, de fibrinólisis incrementada. Es una prueba muy útil para el diagnóstico de TEP, TVP y CID. Permite definir en un procesode hiperfibrinólisis, su origen primario o secundarioa la trombosis

Los resultados que se obtienen con las pruebas de orientación determinan los estudios que se deben realizar. Con el uso de estas pruebas generales, se pueden seguir diferentes esquemas de aproximación al diagnóstico:

1. Si el TS está prolongado y el recuento de plaquetas es normal, deben estudiarse como posibles causas la enfermedad de vW, las trombopatías y las púrpuras vasculares). Si las plaquetas están disminuidas se evalúa la producción y la sobrevida de las plaquetas.

2. Cuando el TTPA está prolongado y el resto de los estudios son normales, está indicado repetir el estudio, que se mezclen a partes iguales el plasma problema (PP) con el plasma normal (PN) y se evalúen entonces los factores o inhibidores según los resultados Si solo el TP está prolongado, se sigue el mismo esquema que para el TTPA pero con el TP, y se repite el estudio con mezclas PP-PN Cuando se tienen alteraciones en el TTPA y en el TP, las causas pueden ser variadas. La más frecuente es la deficiencia por consumo de factores, como se observa en la coagulación intravascular diseminada y en las enfermedades hepáticas.

3. Las alteraciones del TT orientan como causas más frecuentes de los problemas hemorrágicos: hipofibrinogemias, inhibidores tipo herparina u otros inhibidores Cuando es un paciente con cuadros hemorrágicos espontáneos o que, luego de traumas o cirugías, no se encuentren alteraciones de las pruebas mencionadas, se deben evaluar la concentración y la función del factor XIII (figura 3.90) o la hiperactividad del sistema fibrinolítico. Los estudios de los estados de hipercoagulabilidad aparecen en el capítulo sobre las trombofilias.

**Tiempo de protrombina o tiempo de quick:** mide la actividad de los factores de la coagulación VII, X, V, II y fibrinogeno.

**Tiempo de tromboplastina parcial activado (ttp o ptt) o tiempo de cefalina:** mide la actividad de los factores de la coagulación XII; XI; IX; VIII; X; V; II; y fibrinogeno

**Tiempo de trombina:** mide cantidada y funcion del fibrinogeno.

**Fase pre-analítica**;

Los objetivos de las normas de control de la calidad en l fase preanalítica son: fundamentalmente tres: la correcta identificación de paciente, solicitante y pruebas solicitadas, reducir al máximo la variabilidad intra individual de los parámetros a medir evitar el deterioro del espécimen a través de los procesos de obtención manipulación, transporte y conservación.

Correcta identificación de paciente, solicitante y pruebas solicitadas:

Aunque el primer objetivo parezca obvio también son evidentes las consecuencias de un error a este nivel, para cumplimentar esta área debemos disponer de un formato de petición específico, en el que aparte de su nombre y apellidos se identificará de forma inequívoca a cada paciente mediante su número de historia u otro dato numérico (dos pacientes pueden tener iguales nombres y apellidos) asi como al facultativo solicitante

Reducir la variabilidad intraindividual, de cualquier parámetro a medir no puede ser eliminada totalmente ya que el paciente es un ser vivo, pero se puede minimizar si controlamos las causas endógenas y exógenas que la incrementan, entre las causas endógenas la principal son los ciclos hormonales (ritmos circadianos) que modifican los niveles de un parámetro a lo largo del día especial importancia tiene este factor en el estudio de los componentes del sistema fibrinolítico, habitualmente realizamos la extracción del espécimen en las primeras horas de la mañana y recordaremos la importancia de este punto cuando por conveniencia administrativa se plantee la posibilidad de varios horarios de extracción a lo largo del día

Las causas exógenas incluyen principalmente el ejercicio físico especialmente importante cuando vamos a medir reactantes, como factor VII o factor vW y la ingestión de alimentos que a la vez puede representar una interferencia en la fase analítica por enturbiar en plasma.

Obtención manipulación transporte y conservación del espécimen, en cuanto a la obtención de la muestra es importante recordar no prolongar excesivamente la aplicación de torniquetes, lo ideal es no mantenerlo más de un minuto y utilizarlos para punción venosa pero no durante la toma de sangre, los tubos destinados a las pruebas de coagulación deben llenarse después de los destinados a otras pruebas, una excepción sería la determinación del tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPA) en pacientes tratados con heparina, que es un 20% más corto en el primer tubo que en el segundo, los tubos destinados a estudios de coagulación deben obtenerse por punción venosa no aprovechando catéteres posiblemente contaminados con heparina, por último cuando sea necesario el transporte del tubo desde el centro de extracción hasta el laboratorio se evitarán la agitación brusca que puede provocar hemólisis y las temperaturas elevadas, también se tendrán en cuenta los plazos de conservación .

**Fase analítica**

Está dirigida a reducir la impresión o error aleatorio y la inexactitud o error sistemático de las determinaciones, los términos imprecisión e inexactitud no son en absoluto equivalentes, la imprecisión o error aleatorio, representa el grado de discordancia entre medidas repetitivas de un mismo espécimen , con independencia de su proximidad al valor verdadero para luchar contra ello utilizaremos métodos analíticos, aparatos y reactivos de calidad contrastada y se cuidarán los aspectos técnicos del proceso analítico para valorar su magnitud utilizaremos el control de la calidad interno

La inexactitud o error sistemático es el grado de discordancia entre nuestro resultado y el valor verdadero para prevenirlo o reducirlo se requiere una correcta calibración de la técnica su importancia se valora mediante los programas de evaluación externa de la calidad.

**Fase post analítica**

Los elementos más importantes son la ausencia de demora en la entrega del resultado y la calidad informativa del formato de éste, tanto para el paciente como para otros facultativos que pueden atenderle, otro punto importante es disponer de un sistema de almacenamiento adecuado

**SÍNDROME**

Se conoce con este nombre el conjunto de síntomas y signos que de un modo frecuente se presentan asociados siempre de igual forma, pero que pueden corresponder a etiologías distintas. Por ejemplo: el síndrome ictérico con todas sus características clínicas, puede ser producido por alteraciones de los glóbulos rojos (íctero hemolítico), alteraciones hepáticas (íctero hepatocelular) y alteraciones de las vías biliares (íctero obstructivo).

**Síndrome purpúrico hemorrágico. CONCEPTO**

Se denominan así, aquellos procesos en que la sangre se escapa del sistema vascular, sin causa aparente o existe desproporción entre la causa y la intensidad del sangramiento. Las hemorragias pueden ocurrir en la piel y en las mucosas (como en el caso de las púrpuras), en el tejido celular subcutáneo, en las cavidades internas del cuerpo (pleura, abdomen), en las articulaciones o en los puntos traumatizados.

CLASIFICACIÓN FISIOPATOLÓGICA

* Diátesis hemorrágicas por trastornos en los mecanismos plasmáticos de la coagulación y por exceso de anticoagulantes circulantes.

En este grupo se incluyen las entidades patológicas que tienen como mecanismo, el retardo en la formación del coágulo rojo de fibrina y que el sangramiento aparece poco después de ocurrir la hemostasia primaria (plaquetas y vasos).

Se agrupan aquí: las deficiencias de los factores plasmáticos, estudiados en el mecanismo normal de la coagulación; los sangramientos que ocurren por exceso de anticoagulantes circulantes; los debidos a fibrinólisis incrementada, secundaria a diferentes causas y la coagulación intravascular, por consumo de factores.

* Diátesis hemorrágicas por alteraciones plaquetarias.

Se incluye en este grupo, las discrasias producidas por un déficit cuantitativo de las plaquetas o cualitativo, por una liberación defectuosa de diferentes componentes.

Se incluye igualmente, la deficiencia de glicoproteínas de la membrana plaquetaria (Ib-IX), las cuales producen un trastorno de la adhesividad plaquetaria.

* Diátesis hemorrágicas por alteraciones vasculares.

Se producen como consecuencia de una debilidad de la pared del vaso o por un defecto de la adhesividad plaquetaria a nivel del endotelio, por un déficit o formación anormal del factor VIIIvw.

* Diátesis hemorrágicas de etiología compleja.

Se agrupan aquellas discrasias en las cuales el mecanismo de producción del sangramiento es complejo, ya que intervienen varios factores.

**ETIOLOGÍA**

1. Diátesis hemorrágicas plasmáticas:
2. Déficit del fibrinógeno y del factor XIII.
3. Déficit de los factores que alteran el tiempo de protrombina: II, V, VII y X.
4. Hemofilias. Hemofilia A, cuando hay un déficit del factor VIII; hemofilia B, si el factor disminuido es el factor IX y hemofilia C, cuando la baja concentración es del factor XI. En la enfermedad de von Willebrand, a la disminución del factor VIII se asocia un trastorno plaquetario cualitativo.
5. Diátesis por exceso de anticoagulantes circulantes.
6. Diátesis hemorrágicas plaquetarias:
7. Alteraciones plaquetarias cuantitativas.
Trombocitopenias (disminución del número de plaquetas). Las trombocitopenias pueden ser primarias, como en la púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), que tienen un origen inmunológico, o secundarias debido a causas físicas, químicas, infecciosas o sistémicas, entre otras.
Trombocitemias (aumento en el número de plaquetas, pero con alteraciones de su calidad). Se denomina trombocitemia al aumento permanente de las plaquetas; ha sido considerada como un síndrome mieloproliferativo, y como tal puede transformarse en otra de las graves enfermedades del síndrome, por ejemplo, ciertos tipos de leucemia.
Trombocitosis. Es el aumento pasajero y reaccional de las plaquetas, como el que se presenta después de una esplenectomía.
8. Alteraciones plaquetarias cualitativas (trombocitopatías). En las alteraciones plaquetarias cualitativas puede haber un número normal de plaquetas, pero se presentan alteraciones en la adhesión, o en la agregación, o hay déficit del factor plaquetario número 3.
9. Diátesis hemorrágicas vasculares:
10. Congénitas. Enfermedad de Rendu-Osler o telangiectasia hemorrágica, síndrome de Ehlers-Danlos, y otros.
11. Adquiridas.
Púrpura anafilactoide (enfermedad de Schonlein-Henoch).
Infecciosas.
Avitaminosis (escorbuto).
Agentes químicos.
Trastornos vasculares sistémicos. Ejemplo: poliarteritis nudosa.
Trastornos metabólicos. Ejemplo: uremia.
Púrpura senil.
Púrpuras pigmentarias.
Púrpuras ficticias.
Otras.

**TROMBOCITOPENIAS**

La trombocitopenia es la disminución del número de plaquetas circulantes por debajo de 100 x 109/L.

Aunque los valores de referencia de la normalidad están entre 140 y 400 x 109/L, muchos sujetos sanos tienen una concentración de plaquetas entre 100 y 140 x 109/L, por lo que cifras inferiores a 100 x 109/L se consideran una trombocitopenia franca.

Las trombocitopenias se clasifican, según su intensidad y riesgo de sangrado, en: moderadas, cuando las plaquetas están entre 60 y 100 x 109/L; marcadas, entre 20 y 60 x 109/L y graves, menos de 20 x 109 /L.

Las trombocitopenias pueden ser agudas o crónicas y deberse a alteraciones de la médula ósea (centrales) o a afecciones de las plaquetas circulantes (periféricas), es decir, por uno o varios de los tres mecanismos siguientes: disminución de la producción en la médula ósea, incremento del secuestro en el bazo y destrucción acelerada de las plaquetas

Para determinar el origen de las trombocitopenias en cada paciente deben ser estudiados detenidamente:

la extensión de sangre periférica, el aspirado de médula ósea y la biopsia, de conjunto con una evaluación del tamaño del bazo por palpación, ultrasonografía o tomografía axial computarizada (TAC).

**Púrpura trombocitopénica inmunológica**

La púrpura trombocitopénica inmunológica (PTI) presenta 2 formas clínicas: aguda, que ocurre sobre

todo en la infancia; y crónica, que predomina en la edad adulta. Las características clínicas de ambas formas difieren

En las formas agudas, por lo general existe el antecedente de una infección viral y casi siempre remiten sin tratamiento, mientras que las formas crónicas tienen un comienzo insidioso y rara vez remiten sin tratamiento. Los pacientes con ambas formas presentan púrpuras cutáneas, hemorragias en mucosas y trombocitopenias severas menores de 20 x 109/L. También pueden aparecer complicaciones graves como hemorragias intracraneales, aunque son poco frecuentes.

**ENFERMEDAD DE VON WILLEBRAND**

**Concepto:** Es una diátesis hemorrágica congénita, causada por una anomalía cuali y/o cuantitativa del Factor von Willebrand, de tipo autosómico dominante o recesivo

La enfermedad de von Willebrand (EvW) es el trastorno hemorrágico congénito más frecuente. Su prevalencia está entre el 1 y el 3 %, aproximadamente, pero los casos de relevancia clínica son pocos (de 100 a 200 por millón de habitantes). Es resultado de deficiencias o anormalidades del factor von Willebrand (FvW). Este es una glicoproteína adhesiva sintetizada por los megacariocitos y las células endoteliales.

El FvW circula como un grupo de multímeros de diferentes tamaños. Esta proteína participa de forma decisiva en la hemostasia primaria y colabora en la hemostasia secundaria. Es un mediador de la adhesión de las plaquetas al subendotelio en el lugar del daño vascular. Para ello utiliza una glicoproteína de la membrana plaquetaria.

También transporta al FVIII, al que protege de la degradación proteolítica prematura. Los defectos del FvW en la EvW motivan la hemorragia al impedir la adhesión plaquetaria o al afectar la coagulación sanguínea.

El FvW es un reactante de fase aguda, por lo que su concentración aumenta con el ejercicio, el estrés, el tabaco, el embarazo, múltiples enfermedades y por medicamentos (esteroides y hormonas).

**CLASIFICACIÓN:**

* TIPO 1: DEFICIENCIA PARCIAL CUANTITATIVA DE FVW
* TIPO 2: DEFICIENCIA CUALITATIVA DEL FVW
* TIPO 3: DEFICIENCIA COMPLETA DEL FACTOR VW

**MANIFESTACIONES CLÍNICAS**

* Sangrados cutaneomucosos
* Hemorragias tras procedimientos quirúrgicos, traumatismos o extracciones dentales
* Hemorragias gastrointestinales

**LA AUSENCIA DE HEMORRAGIA NO EXCLUYE EL DIAGNOSTICO**

**DIAGNÓSTICO**

**TTPa**: prolongado sólo en los pacientes con deficiencia cuantitativa grave del FvW (EvW tipo 3 y algunos moderados de la EvW tipo 1) y en aquellos pacientes con EvW tipo 2 N.

**Tiempo de sangramiento:** positiva en 50% de los pacientes con EvW. Prolongado en todos los pacientes con EvW tipo 3, en algunos de los pacientes con EvW tipo 1 y en los pacientes con EvW tipo 2 A y 2 B.

**Conteo de plaquetas:** normal en todos los pacientes con EvW excepto en los pacientes con EvW tipo 2 B que puede estar disminuido.

**TP y retracción del coágulo**: normales.

**Tiempo de trombina:** normal

**Pruebas confirmatorias**

**Ag-FvW**: Esencial para el diagnóstico de la EvW.

Técnicas: ELISA es una técnica más estandarizada y de mayor sensibilidad por anticuerpo monoclonal (tiene mayor especificidad), Aglutinación con partículas de látex (Igual sensibilidad y especificidad que el ELISA).

**Ag-FvW**

* Disminuida en 80 % de los pctes
* Normal en pctes con forma moderada de EvW tipo 1
* Indetectable en pctes con EvW tipo 3

**HEMOFÍLIA:**

La hemofilia es un trastorno causado por un rasgo hereditario recesivo ligado al cromosoma X

La hemartrosis es la complicación más frecuente en los pacientes hemofílicos y se va instalando por repetidos sangramientos dentro de la articulación.

El diagnóstico de la Hemofilia se realiza a través de las determinaciones coagulométricas o cromogénicas de las Actividades de factores VIII o factor IX, las cuales se encuentran disminuidas en los pacientes con esta afección

 Es una enfermedad hereditaria caracterizada por una deficiencia de la actividad de:

 Factor VIII (hemofilia A o hemofilia Clásica)
 Factor IX (hemofilia B o enfermedad de Christmas)
 Factor XI (hemofilia C o enfermedad de Rosenthal)
provocando sangramientos prolongados

**EPIDEMIOLOGÍA**

* Afecta a todas las razas.
* 70% herencia madre-hijo, 20-30% nuevas mutaciones.
* Incidencia: 1:5000-10000 (HA) y 1:30000 (HB).

 HA 80% HB 20%

**En cuba:**

La incidencia para la Hemofilia A es de 1 hemofílico por cada 10.000 varones. Para la hemofilia B es 1 por cada 60.000 varones.

**¿Cómo se hereda la hemofilia?**

La hemofilia es un trastorno causado por un rasgo hereditario **recesivo ligado al cromosoma X**, con el gen defectuoso localizado en dicho cromosoma. La hembra la transmite y el varón padece la enfermedad

**MANIFESTACIONES CLÍNICAS:**

**HEMARTROSIS:**

Complicación más frecuente que se va instalando por repetidos sangramientos dentro de la articulación. Cuando son frecuentes e intensas las membranas sinoviales no son capaces de reabsorber toda la sangre, para compensar tal deficiencia la sinovial se hipertrofia dando como resultado lo que se denomina sinovitis crónica hemofílica.

**CLASIFICACIÓN:** ESPONTÁNEAS

 PROVOCADAS

**SANGRAMIENTOS MUSCULARES:**

Psoas-ilíaco, glúteo, muslo, pantorrilla.

 Segunda manifestación en cuanto a frecuencia. Pueden presentarse sin motivo aparente. Es más frecuente en extremidades superiores (antebrazo) e inferiores (ilio-psoas, cuádriceps, gemelos); en los glúteos se presentan generalmente por inyecciones IM.

Cursan con:

Tumefacción y dolor a nivel del hematoma.

Si está próximo a la piel reflejará coloración violácea.

Su crecimiento puede involucrar vasos y nervios.

Se produce espasmo muscular con impotencia funcional relativa de articulaciones proximales.

Si el sangramiento es recurrente o mal manejado

Debilidad muscular

Limitación de la movilidad con mayor riesgo de hemartrosis

Lesiones nerviosas por compresión

Secuelas invalidantes

**HEMATURIA:**

Complicación alarmante pero rara vez grave. Suele ser espontánea y microscópica.

Puede ocasionar cólico nefrítico por obstrucción uretral.

Si es poco intensa se autolimita.

Si es grave y/o recurrente debe imponerse tratamiento y buscar otra causa (infecciones, uropatía obstructiva, enfermedades malignas, ingestión de medicamentos.

**SANGRAMIENTOS GASTROINTESTINALES:**

No son frecuentes y en caso de aparición se debe sospechar lesión orgánica como: gastritis, úlceras, divertículos, ingestión de medicamentos.

Se observa sangramiento digestivo alto en forma de melena o sangramiento digestivo bajo como rectorragias.

**SANGRAMIENTOS del SNC:**

Constituyen la primera causa de muerte, son peligrosas, de no tratarse inmediata y adecuadamente suelen ser mortales.

Las más frecuentes son la subaracnoidea y subdural.

Se manifiestan de acuerdo a extensión y sitio. Puede ser desencadenada por un trauma mínimo o espontáneamente.

**Hemorragia Oral:** frecuente en los primeros años de vida. Puede ser secundaria a rotura del frenillo labial, erupción dental, caída de dientes, laceraciones de encías y dientes. Puede ser profuso y de duración variable.

**Epistaxis:** suele ser leve o moderado, puede persistir y anemizar al paciente.

**Hemorragias en sitios poco usuales**: intraabdominal, retroperitoneal, pulmonar, pericárdica, traqueal.

**DIAGNOSTICO HEMOFILIA**

* **Antecedentes personales** de episodios recurrentes de sangramientos prolongados espontáneos, o luego de lesiones o procedimientos quirúrgicos.
* **Antecedentes familiares** de episodios de sangramientos en varones, aunque puede tener historia familiar negativa

**PRUEBAS DE LA HEMOSTASIA:**

**Coagulograma:**

Tiempo de sangramiento normal.

Tiempo de protrombina normal.

Recuento de plaquetas normal.

TTPA prolongado.

**Actividad del factor VIII o factor IX**:

DISMINUIDA
Hemofilia severa: menos de 1% de actividad del factor.

Hemofilia moderada: 1-5% de actividad del factor.

Hemofilia ligera: más de 5% de actividad del factor.

* **Diagnóstico genético:**
* Puede llevarse a cabo por pruebas indirectas, análisis de segregación o marcadores genéticos intragénicos o extragénicos.
* **Diagnóstico prenatal:**
* Técnicas de ADN directas sobre biopsia de vellosidades coriónicas fetales.
* Estudios en células fetales obtenidas del líquido amniótico, mediante amniocentesis.
* Obtención de sangre fetal por cordocentesis para medir niveles de factor VIII.
* **Detección de portadoras:**

 Se analiza el árbol genealógico y se identifican las ***portadoras obligadas*:**

* Hijas de padres hemofílicos
* Madres de hijo hemofílico y familiares maternos afectados.
* Madres de hijos varones hemofílicos, de embarazos independientes

**TRATAMIENTO INTEGRAL DEL PACIENTE HEMOFÍLICO**

* Hematólogo
* Ortopédico
* Psicólogo
* Fisiatra
* Estomatólogo

**TRATAMIENTO SUSTITUTIVO DE LA HEMOFILIA**

Plasma fresco congelado

Crioprecipitado

Concentrado de complejo protrombínico

Concentrados de factor VIII y factor IX

Concentrado de factor VIIa recombinante

**TRATAMIENTO PROFILÁCTICO**

* Tratamiento de elección en los pacientes pediátricos
* Impacto sobre secuelas ortopédicas
* No está asociado a un mayor riesgo de desarrollo de inhibidores
* Se comienza entre 1 y 2 años de edad
* Hemofilia A: 25-35 U FVIII/Kg 3 veces por semana
* Hemofilia B: 25-35 U FIX/Kg 2 veces por semana

**CID. COAGULACIÓN INTRAVASCULAR DISEMINADA**(síndrome de desfibrinación o coagulopatía por consumo).

Síndrome patológico provocado por un grupo heterogéneo de enfermedades, se caracteriza por evidencia por pruebas de laboratorio de consumo y degradación proteolítica de factores hemostáticos, su expresión clínica varia y puede manifestarse solamente con alteraciones de laboratorio o acompañarse de complicaciones hemorrágicas y trombóticas.

**Definición de CID (Criterios mínimos aceptables)**

Un trastorno trombohemorrágico sistémico en asociación con situaciones clínicas bien definidas.

Evidencias de laboratorio de:

Activación procoagulante

Activación fibrinolítica

Consumo de inhibidores

Evidencia bioquímica de daños o insuficiencias de órganos.

**Causas de CID**

**I-Shock**

* 1. Séptico
* Por bacterias Gram negativas (endotoxinas)
* Por bacterias Gram positiva (mucopolisacáridos).
	1. Hemorrágico.
	2. Traumático

**II-Hemólisis intravascular**

Reacciones hemolíticas transfusionales

Transfusiones masivas.

**III-Accidentes obstétricos**

Embolismo de líquido amniótico

Abrupto placentae

Síndrome de feto muerto

Eclampsia.

Aborto séptico

**IV-Procesos infecciosos**.

Bacterias

Viremias:

HIV

Hepatitis

Varicela

Citomegalovirus.

Otros.

**V-Enfermedades malignas.**

Metastásica

Leucemias:

 Promielocítica

 Mielomonocítica

**Otras.**

**VI-**Quemaduras

**VII-**Enfermedad hepática aguda

**VIII-**Ictero obstructivo

**IX-**Insuficiencia hepática aguda.

**X-**Válvulas protésicas.

**XI-**Alteraciones vasculares

(Síndrome de Kassabach Merrit)

**Patogenia**

* Depende dela Generación excesiva y desregulada de trombina, y de la formación de plasmina en presencia de monómeros de fibrina.

**Pruebas de laboratorio en el diagnóstico de CID**

|  |  |
| --- | --- |
| **PRUEBA** | **RESULTADO** |
| Conteo de plaquetas (X) | Disminuido |
| Tiempo de protrombina | Prolongado |
| Tiempo parcial de tromboplastina | Prolongado |
| Tiempo de trombina | Prolongado |
| Tiempo de reptilasa | Prolongado |
| Factores de la coagulación | Disminuido |
| Productos de degradación de fibrinógenos (PDF) (X) | Aumentado |
| Test de sulfato de protamina (X) | Positivo |
| Fibrinopéptido A (X) | Aumentado |
| β Beta 15 – 42 y peptidos relacionados (X) | Aumentado |
| Antitrombina III (X) | Disminuido |
| Complejo T-ATIII  | Aumentado |
| Dimero D (X) | Aumentado |
| F4 plaquetario (X) | Aumentado |
| β tromboglobulina | Aumentado |
| Niveles de plasminógeno (X) | Disminuido |
| Niveles de plasmina (X) | Aumentado |
| Lámina de periferia (X)Conteo de Leucocitos | EsquistocitosAumentado |

(X) Son pruebas importantes en el diagnóstico y en la eficacia de la terapéutica impuesta

**SISTEMA DE PUNTUACION PARA DIAGNÓSTICO DE CID**

**SOCIEDAD INTERNACIONAL DE TROMBOSIS Y HEMOSTASIA**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **TEST** | **HALLAZGO** | **PUNTUACION** |
| PLAQUETAS | > 100 X 109/L50 - 100 X 109/L< 50 | 012 |
| T. PROTROMBINA | TP < 3 seg/controlTP % 3 y 5,9 seg/controlTP ≥ 6 seg/control | 012 |
| FIBRINOGENO | > 100 mg/dl< 100 mg/dl | 01 |
| MONOMEROS DE FIBRINA ó PDF | NO INCREMENTOINCREMENTO LIGEROINCREMENTO MODERADOINCREMENTO SEVERO | 0123 |

PUNTUACION ≥ 5 COMPATIBLE CON CID

**FIBRINOLISIS**

* El proceso de la Fibrinólisis destruye la fibrina formada durante la coagulación. Se caracteriza por la producción de plasmina a partir de un precursor inactivo del plasma, el plasminógeno. La activación de éste se efectúa a través de un activador tisular. De modo similar a lo que ocurre en el proceso de la coagulación, también existen inhibidores de la fibrinólisis (antiplasminas y antiactivadores)

**ACCIÓN DE LA PLASMINA.**

* Enzima central del mecanismo de la fibrinólisis, que deriva del plasminógeno.
* Enzima limitante del proceso trombótico.
* Degrada el Fibrinógeno
* Degrada la fibrina
* Proteolisis de los factores V, VIII, IX y XIII
* Activa la bradiquinina

**PRUEBAS QUE EXPLORAN FIBRINOLISIS**

**ORIENTACION:**

* Tiempo de lisis del coágulo de sangre total
* Tiempo de lisis del coágulo de euglobulina
* Complejos solubles
* Productos de degradación del fibrinógeno y la fibrina (PDF)
* Dimero D

**Estudio de factores:**

* Plasminógeno funcional, antigénico o ambos
* Alfa 2 antiplasmina
* Activador hístico del plasminógeno (t-AP)
* Inhibidor del t-AP (PAI-1)

**FIBRINOLISIS PRIMARIA:** La fibrinólisis puede ser primaria o secundaria a la CID, y se requieren pruebas especiales específicas para el establecimiento del diagnóstico diferencial.

*CUADRO CLINICO: SIMILAR A LA CID*

*LABORATORIO:*

* TP, TTPA, TT: PROLONGADOS
* TIEMPO DE LISIS DE LAS EUGLOBULINAS: ACORTADO
* FACORES I, V, VII, XIII: DEFICIENTES
* PLAQUETAS: NORMALES O LIGERA DISMINUCIÓN
* PLASMINOGENO: DISMINUIDO
* PDF: ELEVADOS
* FP-A, DÍMERO D Y MONÓMEROS DE FIBRINA: NORMALES