

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE MEDICINA  
ESCUELA DE TECNOLOGIA MEDICA  
LABORATORIO CLINICO

EL LABORATORIO EN EL ESTUDIO DE LA COAGULACION

SEMINARIO DE GRADUACION

Presentado por:

MARTA ANGELA RODRIGUEZ HERNANDEZ  
VICTORIA EUGENIA VARGAS BARNEOND

Previa a la Opción del Título de:  
LICENCIADO EN LABORATORIO CLINICO



CIUDAD UNIVERSITARIA, OCTUBRE DE 1987

SAN SALVADOR,

EL SALVADOR,

CENTRO AMERICA

T  
612-115  
R696

UES BIBLIOTECA CENTRAL



INVENTARIO: 10117671

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR : LIC. LUIS ARGUETA ANTILLON

SECRETARIO : ING. MAURICIO MEJIA

FACULTAD DE MEDICINA

DECANO : EN FUNCION DR. RAFAEL MONTERROSA ROGEL

SECRETARIO : T.M. MARIA ANTONIA TOBAR DE INTERIANO

DIRECTOR DE ESCUELA  
DE TECNOLOGIA MEDICA  
LABORATORIO CLINICO : LIC. ALCIRA DE RUANO

JURADO

DRA. GRACIELA ECHEGOYEN DE HERNANDEZ

DR. ROMULO SOSA

DR. GERMAN CEA CERROS

## AGRADECIMIENTO

A DIOS TODOPODEROSO, POR HABERNOS PERMITIDO REALIZAR ESTE TRABAJO.

A LA CASA BOEHRINGER MANNHEIM GMBH DE LA REPUBLICA FEDERAL DE ALEMANIA, POR PROPORCIONARNOS LOS REACTIVOS.

AL INSTITUTO SALVADOREÑO DEL SEGURO SOCIAL, POR HABERNOS SUMINISTRADO EL EQUIPO Y MATERIAL NECESARIO PARA EL DESARROLLO DE ESTE TRABAJO.

A LA DOCTORA GRACIELA ECHEGOYEN DE HERNANDEZ, POR SU DECISIVA COLABORACION Y ORIENTACION.

A LA LICENCIADA ALCIRA DE RUANO, POR SU APOYO Y COMPRESION.

AL DOCTOR ROMULO SOSA, POR LA ORIENTACION Y EL APOYO MORAL QUE NOS BRINDO. ADEMÁS DE FACILITARNOS LOS MEDIOS Y DEMÁS ELEMENTOS INDISPENSABLES PARA HACER NUESTRA PRACTICA.

CON SINCERO AGRADECIMIENTO Y DE MANERA MUY ESPECIAL A LA LICENCIADA GUADALUPE DE BARAHONA, POR EL APORTE DE SUS CONOCIMIENTOS CIENTIFICOS Y SU EXCELENTE PROFESIONALISMO PARA LOGRAR LA ELABORACION Y CULMINACION DE ESTE TRABAJO.

A NUESTRA AMIGA LICENCIADA EDITH RAMIREZ, POR SU VALIOSA Y DESINTERESADA COLABORACION.

AL PERSONAL DE LA SECCION DE HEMATOLOGIA DEL INSTITUTO SALVADOREÑO DEL SEGURO SOCIAL Y A TODAS LAS PERSONAS QUE EN UNA U OTRA FORMA NOS AYUDARON A REALIZAR ESTE TRABAJO.

DEDICATORIA

A MI ESPOSO:

FRANCISCO JOSE MORALES ESTUPINIAN

A MIS HIJOS:

FRANCISCO JOSE Y MARTHA CELINA

A QUIENES TANTO QUIERO,  
POR SU AMOR Y COMPRESION.

A MIS PADRES:

JOSE A. RODRIGUEZ  
MARTA ALICIA HERNANDEZ DE RODRIGUEZ

POR SU CARINO Y ESFUERZO  
EN MI FORMACION PROFESIONAL

A MIS HERMANOS:

CLAUDIO, JOSE ALBERTO Y ANTONIO ALFREDO

CON CARINO FRATERNAL.

MARTA ANGELA

## DEDICATORIA

- A DIOS TODOPODEROSO : POR DARME LA VIDA Y HERMOSOS MOTIVOS PARA VIVIRLA, COMO MI CARRERA PROFESIONAL.
- A MIS PADRES : DR. JORGE ALBERTO VARGAS Y HAYDEE BARNEOND DE VARGAS MI GRATITUD POR SU AMOR Y SACRIFICIO EN LA CORONACION DE MI CARRERA.
- A MI ESPOSO : DR. JOSE DANIEL MARENCO ARDON, POR EL REGALO DE SU AMOR, COMPAÑIA Y APOYO.
- A MIS HIJOS : JOSE DANIEL Y EUGENIA BEATRIZ CON INMENSO AMOR Y CARINO POR SER LA INSPIRACION EN LA CULMINACION DE MI CARRERA.
- A MI ABUELITA : CARMEN BARNEOND CON PROFUNDO AMOR Y CARINO.
- A MIS TIAS : CARMEN Y ANA BARNEOND, MI AGRADECIMIENTO CON ESPECIAL CARINO Y AFECTO.
- A MIS HERMANOS : JORGE ALBERTO, JUAN CARLOS Y ROCIO DEL CARMEN, CON FRATERNAL CARINO.
- A LA FAMILIA : MARENCO ARDON, CON CARINO

VICTORIA EUGENIA

EL LABORATORIO EN EL ESTUDIO DE LA COAGULACION

# I N D I C E

	Páginas
I RESUMEN.....	1
II INTRODUCCION.....	2
III OBJETIVOS.....	19
IV MATERIALES Y METODOS.....	20
V RESULTADOS.....	32
VI DISCUSION.....	46
VII RECOMENDACIONES Y CONCLUSIONES...	50
VIII BIBLIOGRAFIA.....	52

## I. RESUMEN

Este trabajo se realizó con el objeto de establecer los Rangos de Referencia del Tiempo de Trombina, Tiempo de Protrombina, Tiempo Tromboplastina Parcial y Cuantificación de Fibrinógeno en una población de personas aparentemente sanas de los afiliados al Instituto Salvadoreño del Seguro Social, para lo cual se procesaron 297 muestras de plasma utilizando para ello reactivos comerciales de marca reconocida y el sistema semiautomático "fibrosystem". Los rangos obtenidos fueron comparados con los valores de los controles comerciales liofilizados y con la solución de plasmas normales frescos humanos utilizados como un control normal.

Debido a la situación anormal que atravieza nuestro país se nos hizo imposible procesar un mayor número de muestras por la escasez de reactivos.



## II. INTRODUCCION

Hemostasia significa: paro de la pérdida de sangre a través de un vaso lesionado. Siempre que un vaso se corta o se desgarrá, se logra hemostasia por medio de un mecanismo complejo que incluye fenómenos físicos y bioquímicos que culminan en la producción fisiológica de un coágulo que repara el vaso lesionado. (15)

El progreso en el estudio de la hemostasia y la trombosis ha tenido diferentes etapas. Los griegos y romanos conocieron los principales componentes de la sangre, su forma líquida intravascular y el estado sólido del coágulo después de la hemorragia. En 1666, Malpighi observó haces de fibrina que persistían después de lavar el coágulo sanguíneo. En 1771, W. Hewson descubrió la coagulación como una propiedad del plasma. En 1845, Buchanan observó que la fibrina se formaba después de unir el plasma y el suero reciente; descubrió así, la sustancia llamada Trombina. En 1859, Denis demostró que en el plasma había un material que era el precursor soluble de la fibrina del coágulo; esta proteína recibió el nombre de Fibrinógeno. En 1879, Hammersten aisló el fibrinógeno. En 1890, Arthus y Pagis demostraron la importancia del calcio en la coagulación al apreciar el efecto anticoagulante del oxalato de calcio. Fue hasta inicios del presente siglo que Morawitz recopiló la información disponible realizada por los investigadores de esa época y los plasmó en un esquema que ha servido de base para estudios

posteriores. Según las observaciones de este investigador, los extractos de tejido (Tromboplastina) aceleran la coagulación de la sangre en presencia del ión calcio. ( 3, 5, 16, 25) ( Ver esquema 1.)

Los aportes al conocimiento de la hemostasia y la trombosis se obtuvieron mediante el empleo de diferentes técnicas y conclusiones poco uniformes, por lo que era difícil ordenar las ideas. Fue en las conferencias anuales organizadas en Nueva York por la Fundación Josiah Macy sobre coagulación y problemas afines (1949-1952), donde se logró ordenar los conocimientos que se tenían hasta la fecha sobre el estudio de la coagulación. (3)

El concepto moderno de Coagulación considera a ésta como un proceso enzimático, lo cual se puede observar en la llamada "Teoría de la Cascada", que fue presentada simultáneamente por MacFarlane y Davie - Ratnoff. Según dicha teoría, los factores de la coagulación que existen en el plasma - a excepción del fibrinógeno - son precursores inertes que circulan como proenzimas y se transforman en enzimas al ser activadas por el factor que los antecede. (22)

La mayoría de los factores de la coagulación circulantes son proteasas séricas o serinproteasas, que son enzimas de degradación. En 1957 se formó un Comité Internacional de Nomenclatura de los Factores de la Coagulación con el fin de

establecer una nomenclatura standard, asignando un número romano a cada factor conocido, debiéndose además precisar las patologías asociadas a ellos, las técnicas de dosaje y el estudio del metabolismo (Ver tabla No. 1 de la Nomenclatura de los Factores de la Coagulación en página No. 11)

El factor XII y XI, ambos de alto peso molecular, son proteínas plasmáticas que intervienen en las primeras fases de la coagulación sanguínea. Por su activación en contacto con el vidrio y otras superficies extrañas se les ha llamado Factores de Contacto (otros factores de contacto son la precalicreína y el cininógeno de alto peso molecular).

Los factores II, VII, IX, X forman el complejo de la Protrombina y su síntesis depende de la vitamina K.

Los factores I, V, VIII, XIII se consumen durante el proceso de la coagulación, por lo que son factores que no están presentes en el suero.

Desde un punto de vista muy general, los mecanismos que participan en los complicados procesos de hemostasia se pueden agrupar en tres sistemas: vascular, plaquetario y plasmático. Los dos primeros pueden resumirse en los siguientes pasos:

a) vasoespasmo reflejo, que se produce casi instantáneamente como

respuesta a una lesión y que puede mantenerse por 15 minutos a 18 minutos; b) aumento de la presión de los tejidos, como consecuencia de la acumulación de sangre que salió de los vasos dañados; c) adosamiento de las paredes de capilares y vasos pequeños; d) adhesión plaquetaria a la superficie lesionada; e) inicio del proceso de coagulación una vez producida la agregación plaquetaria. (5)

La formación de grumos de plaquetas se produce normalmente in vivo después de una lesión vascular. Comenzando con una adhesión plaquetaria que induce una reacción de liberación vaciando el contenido de sus gránulos al medio externo. La liberación puede ser inducida por ADP, serotonina, Trombina, colágenos y otros materiales. La liberación de ADP es una señal de agregación para otras plaquetas, y de esta manera se forma el tapón plaquetario. (22) (Ver esquema 2)

El sistema hemostático se halla implicado en la reparación rápida de las interrupciones de la circulación sanguínea, sin afectar con ella la respuesta de la sangre. Durante los primeros 5 minutos de la lesión vascular, el tapón inicial es formado por las plaquetas. Además se requiere de la membrana superficial plaquetaria para iniciar y mantener la reacción enzimática de la cascada de la coagulación; de ahí la importancia de estas células.

El tapón plaquetario es bastante laxo y se desprenderá

rápidamente sin el soporte estructural de las bandas de fibrina.

El coágulo sanguíneo se desarrollará en el sitio de la lesión vascular, simultáneamente sobre una superficie de plaquetas activadas.

La fibrinólisis es un fenómeno que depende de un sistema enzimático proteolítico (plasminógenoplasmina) gracias al cual se disuelven los polímeros de fibrina formados, permitiendo remover el coágulo y cualquier plaqueta atrapada dentro del coágulo . (5)  
(Ver esquema 3)

A partir de la lesión de un vaso se activan los factores de coagulación sanguínea en forma sucesiva o casi simultánea comparándolo con una cascada. Este sistema se divide básicamente en tres vías:

- 1.- La vía intrínseca: de activación del factor X
- 2.- La vía extrínseca: de activación del factor X
- 3.- La vía común: que son los pasos que siguen a la activación del factor X y que terminan con la formación del coágulo de fibrina.

En la vía Intrínseca la totalidad de los procoagulantes necesarios para la formación del coágulo se hallan en la sangre circulante; por el contrario, la vía extrínseca requiere de la liberación del factor histico a partir de células endoteliales.

Via Intrínseca: comienza intravascularmente con la activación del factor XII a partir del contacto de éste con una superficie extraña. El factor XIIa convierte el factor XI en XIa, una serinproteasa, que a su vez activa el factor IX en presencia de iones calcio. El factor IXa activa el factor X en una reacción que requiere iones de Calcio, Fosfolípidos (F3P) y Factor VIII (Ver esquema 4)

Via Extrínseca: los tejidos contienen un complejo lipoproteico (Factor histico o tisular) que en contacto con el plasma activa rápidamente el factor X, pero sólo en presencia del factor VII en un medio con iones de Calcio. (Ver esquema 5)

Via Común: se inicia con la activación del factor X por cualesquiera de las vías anteriores. El factor Xa es una serinproteasa que al interaccionar con el factor V, fosfolípido y iones de calcio, determina la rápida conversión de Protrombina (II) en Trombina (IIa). Aunque el factor Xa puede convertir la Protrombina en Trombina directamente, la reacción es muy lenta, pero se acelera mil veces si el factor Xa se halla en presencia de los elementos antes mencionados y con los cuales forma el complejo llamado "Protrombinasa", que es el que actúa como una enzima. (5, 22) (Ver esquema 6)

La Trombina es una enzima proteolítica que actúa sobre el fibrinógeno y lo convierte en monómero de fibrina; estos monómeros

posteriormente se polimerizan para formar el coágulo de fibrina, que se hace estable por la acción del factor XIII, el cual fue activado por la misma Trombina. (Ver esquema 7)

Existen dos tipos de lípidos biológicos que se mantienen disponibles al momento de la lesión: a) el fosfolípido de la membrana plaquetaria (F3P), que se vuelve disponible sólo en las plaquetas activadas en el sitio de la lesión y b) el fosfolípido tisular, que es el liberado de la membrana de la superficie celular de los tejidos lesionados. (5)

Las múltiples interrelaciones que se conocen en la actualidad de la hemostasia primaria - a través del F3P o fosfolípidos - con la hemostasia secundaria, así como las comunicaciones entre las vías extrínsecas e intrínsecas y el mecanismo fibrinolítico y la vía de las kininas, hacen considerar que in vivo todo el mecanismo es simultáneo y esto permite que sean factibles y efectivos los controles de autorregulación positivos y negativos.

Las pruebas de laboratorio empleadas en el estudio de la coagulación requieren que sean rápidas, sensibles y reproducibles, permitiendo identificar en el menor tiempo posible el mayor número de problemas de los factores plasmáticos de la coagulación.

Las pruebas de laboratorio más específicas se pueden investigar de acuerdo a la fase de la coagulación que se pretende

estudiar, y que individualizan cada paso o factor que interviene. Así se ha dividido en:

<u>FASE</u>	<u>PRUEBA DE LABORATORIO</u>
- Vascular y Plaquetaria	Recuento de Plaquetas. Prueba de Torniquete. Tiempo de Sangrado. Consumo de Protrombina. Retracción porcentual del Coágulo.
- Via Extrínseca y Común	Tiempo de Protrombina.
- Via Intrínseca y Común	Tiempo de Tromboplastina Parcial activada.
- Fibrinólisis	Dosificación del Fibrinógeno. Lisis de Euglobulina. Tiempo de Trombina.

El médico utiliza estas pruebas como un punto de referencia para decidir si los resultados de un paciente son normales o anormales. Por lo que es necesario e importante que cada laboratorio de un centro hospitalario establezca sus propios



Rangos de Referencia de las pruebas mínimas de coagulación: Tiempo de Trombina, Tiempo de Protrombina, Tiempo de Tromboplastina Parcial y Cuantificación de Fibrinógeno, estableciendo así un control de calidad dentro de las condiciones físicas, ambientales y socioeconómicas de nuestro medio, siempre comparando los resultados con los plasmas controles comerciales para asegurar el buen funcionamiento de los reactivos.

En nuestro país así como en el resto de países del Área centroamericana, aún no se han establecido Rangos de Referencia en Pruebas de Coagulación (8). Este hecho nos motivó a realizar el presente estudio con el objeto de establecer un Rango de Referencia en nuestra población que pueda ser utilizado como control de calidad al hacer evaluaciones de las pruebas de coagulación.

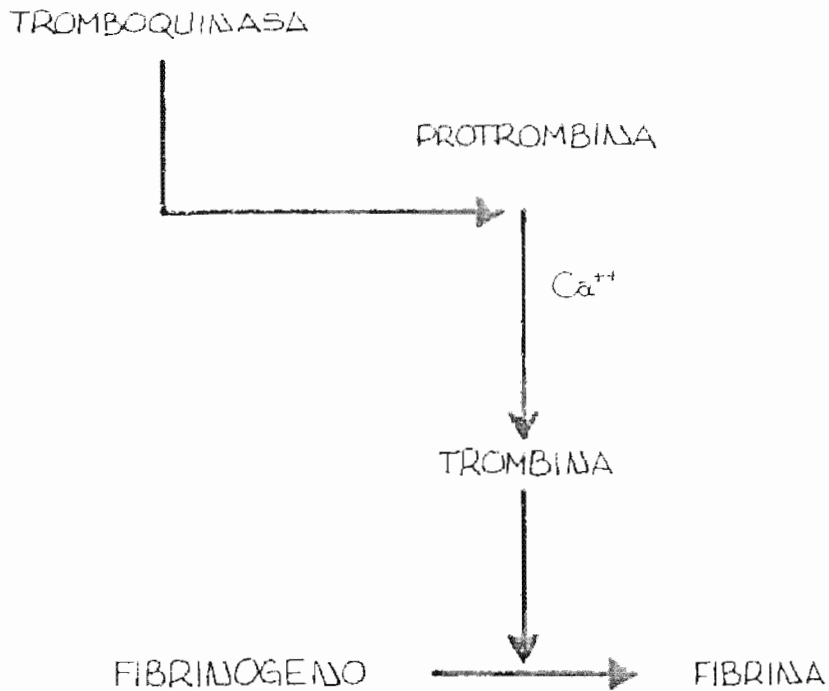
TABLA 1  
NOMENCLATURA DE LOS FACTORES DE COAGULACION

<u>NOMENCLATURA INTERNACIONAL</u>	<u>SINONIMOS CONOCIDOS</u>
I -----	Fibrinógeno
I' -----	Monómero de Fibrina
I'' -----	Polímero de Fibrina
II -----	Protrombina
III -----	Tromboplastina Tisular, Factor Tisular
IV -----	Calcio, Ión Calcio
V -----	Factor Lábil, Proacelerina
VI -----	No asignado
VII -----	Proconvertina, Acelerador sérico de conversión de Protrombina.
VIII -----	Factor Antihemofílico A (AHF) Globulina Antihemofílica.
IX -----	Factor Antihemofílico B, Factor Christmas Componente Tromboplastínico plasmático (PTC)
X -----	Factor Stuart-Prower
XI -----	Factor Antihemofílico C, Antecedente Tromboplastínico plasmático (PTA).
XII -----	Factor Hageman
XIII -----	Factor estabilizador de la fibrina
HMW-K -----	Cinínógeno de alto peso molecular, Factor de Fitzgerald.
PRE-K -----	Pre-calicerina, factor de Fletcher
Ka -----	Calicerina
PL -----	Fosfolípido plaquetario.

Fischbach, D. and Fogdall, R.: Coagulation, The Essentials. Williams & Wilkins, Baltimore/London, 1982.

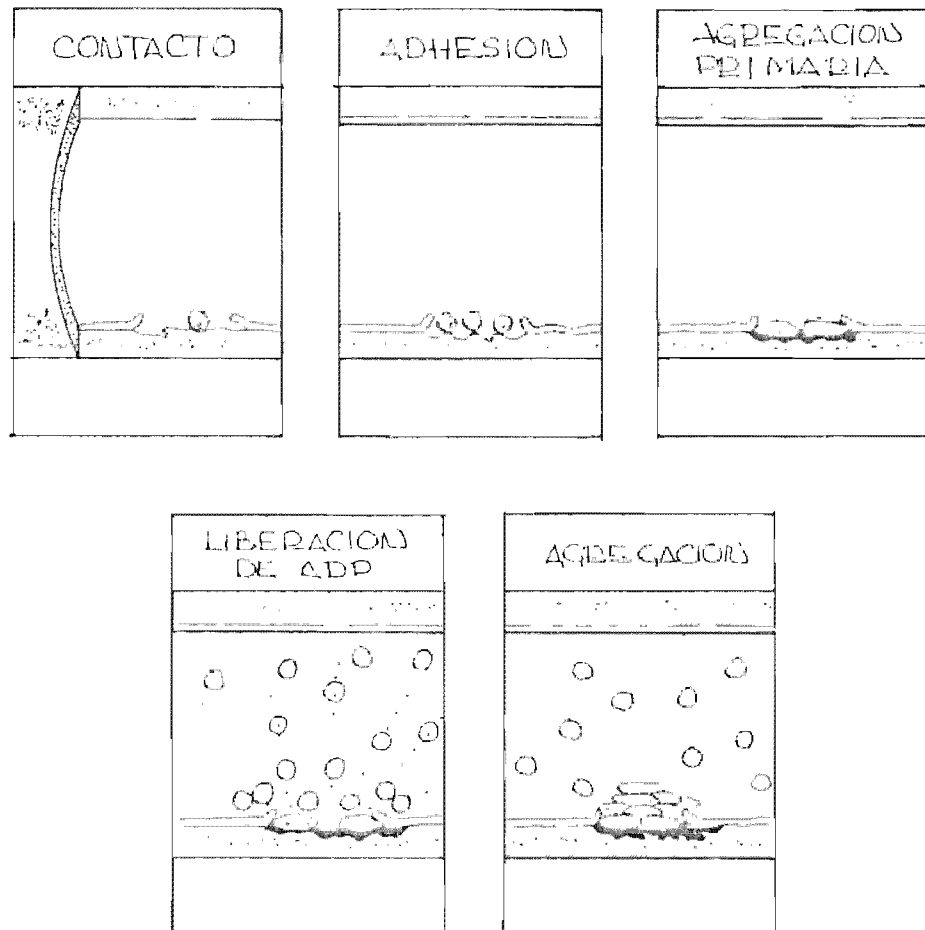
Tood Sanford - Davidson.: Diagnóstico y Tratamiento Clínico por el Laboratorio, Tomo II, 7a. Edición, Salvat Editores, S.A., España, 1984.

# ESQUEMA 1 SCHMIDT-MORAWITZ

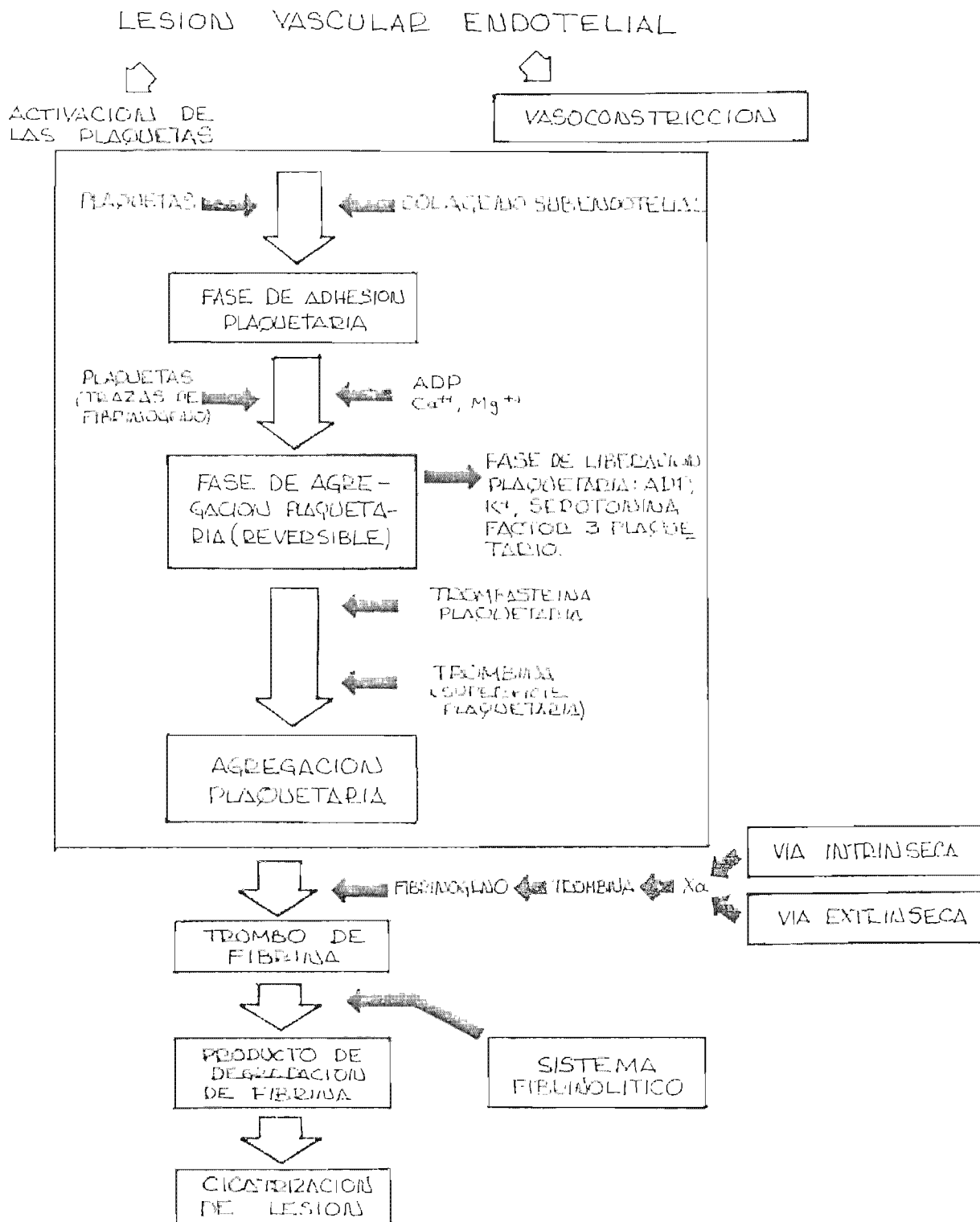


## ESQUEMA 2

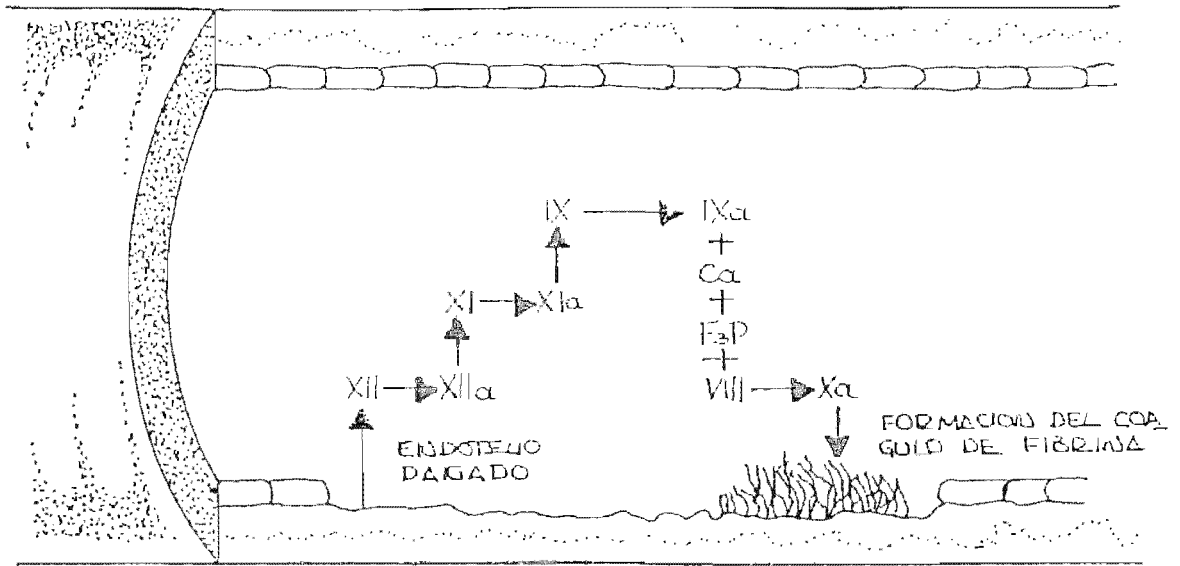
MECANISMO SECUENCIAL DE LA INTERACCION DE LAS PLAQUETAS CON UN VASO LESIONADO.



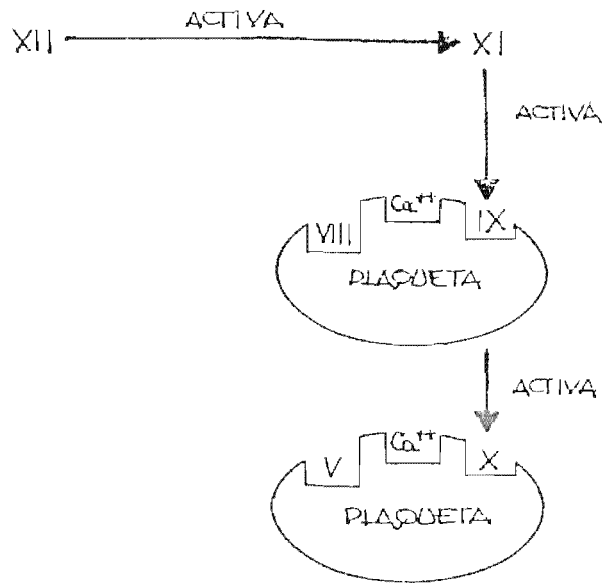
# ESQUEMA 3 HEMOSTASIA: REPRESENTACION ESQUEMATICA



# ESQUEMA 4 VIA INTRINSECA

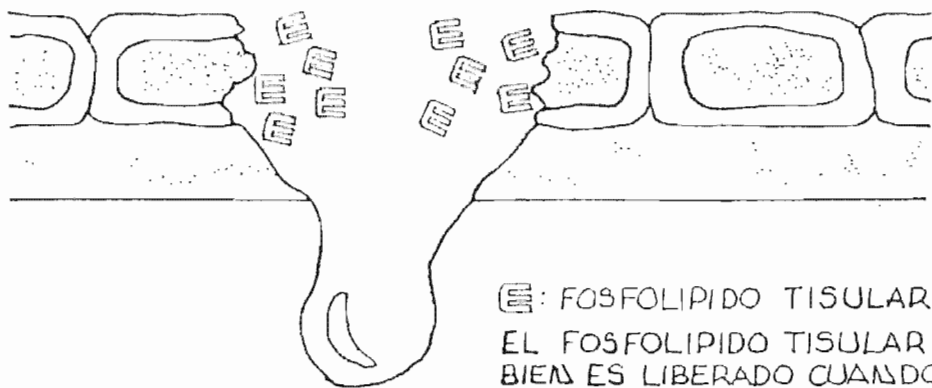
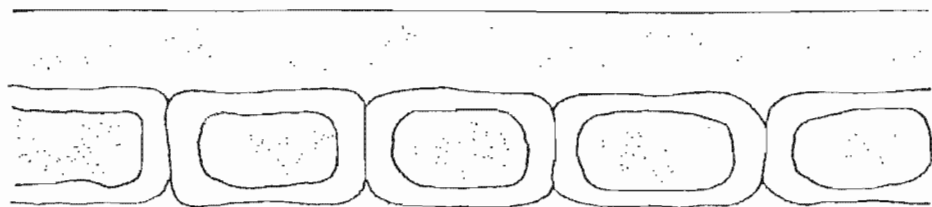


LA VIA INTRINSECA COMIENZA INTRAVASCULARMENTE CON ACTIVACION DEL FACTOR XII. EL FACTOR XII ES ACTIVADO POR LA SUPERFICIE DE CONTACTO CON EL ENDOTHELIO DEL VASO DAÑADO.

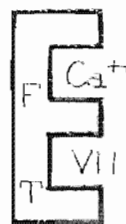


FISCHBACH, D. AND FOGDALL, D.,  
COAGULATION THE ESSENTIALS,  
WILLIAMS & WILKINS, BALTIMORE (1962)

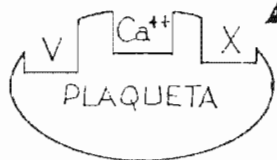
# ESQUEMA 5 VIA EXTRINSECA



F.T.: FOSFOLIPIDO TISULAR  
 EL FOSFOLIPIDO TISULAR TAMBIEN ES LIBERADO CUANDO HAY RUPTURA DE CELULAS ENDOTELIALES.



ACTIVA

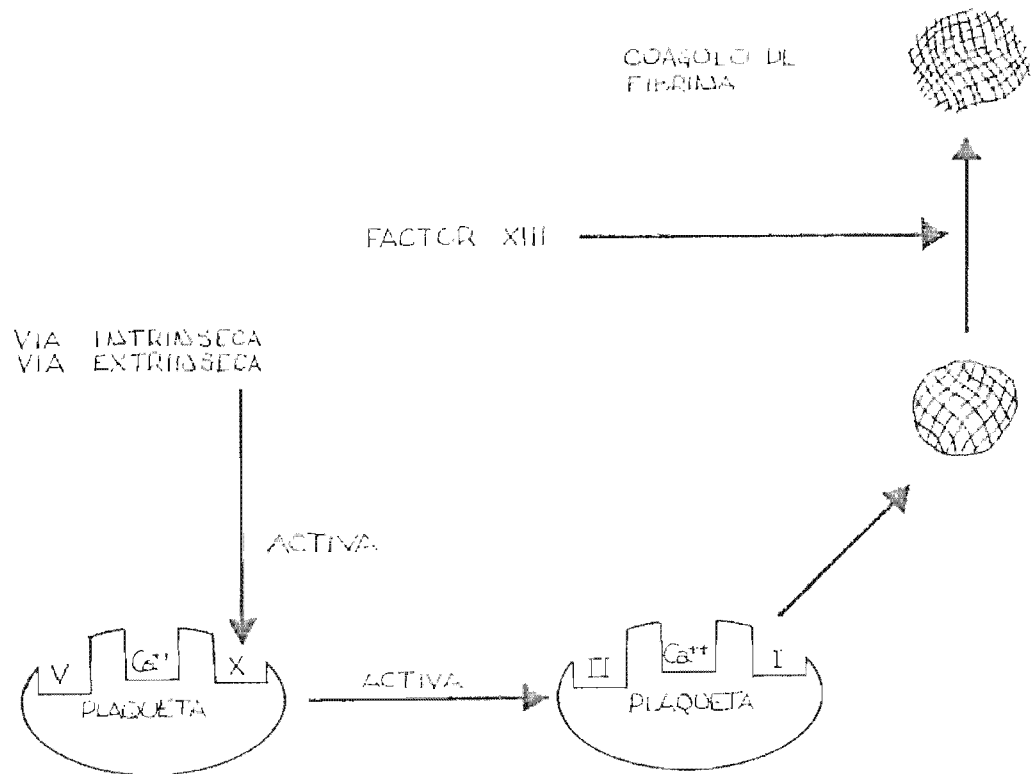


F.T. : FACTOR TISULAR

FISCHBACH, D. AND FOGDALL, R.,  
 COAGULATION THE ESSENTIALS,  
 WILLIAMS & WILKINS,  
 BALTIMORE / LONDON, 1980.

# ESQUEMA 6

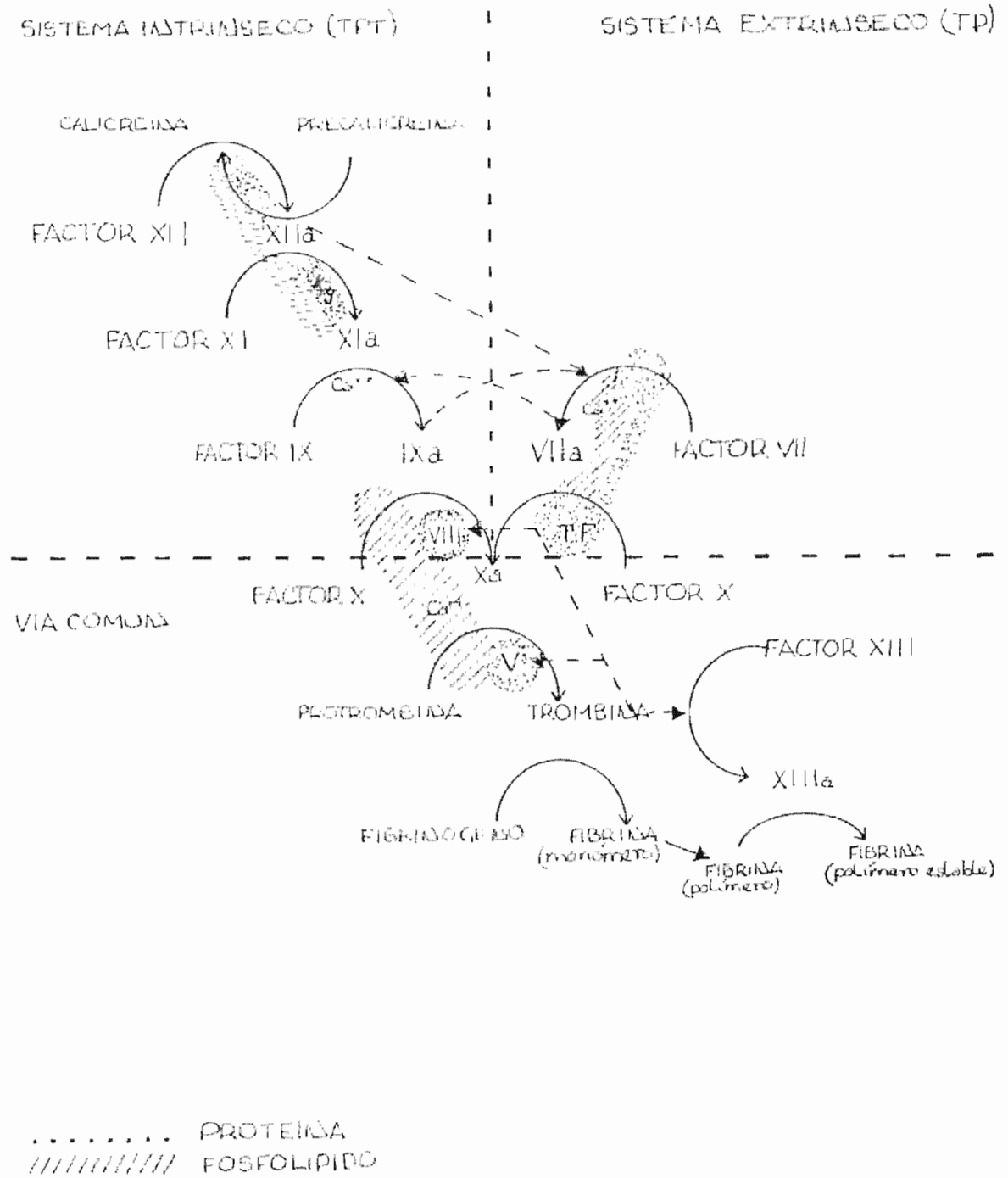
## VIA COMUN



EL COAGULO DE FIBRINA ES EL PRODUCTO FINAL DE LA CAS-  
CADA DE LA COAGULACION.  
EL FACTOR XIII ES EL FACTOR ESTABILIZADOR DE LA FIBRINA



# ESQUEMA 7 MECANISMO DE LA INTERACCION DE LOS FACTORES DE LA COAGULACION



### III. O B J E T I V O S

1. Establecer los Rangos Normales de Referencia para Tiempo de Trombina, Tiempo de Protrombina, Tiempo de Tromboplastina Parcial y Cuantificación de Fibrinógeno en muestras obtenidas en personas aparentemente sanas, en este caso afiliadas al Instituto Salvadoreño del Seguro Social.
2. Una vez establecidos, utilizar estos Rangos Normales de Referencia para obtener Rangos Terapéuticos durante el tratamiento de los pacientes anticoagulados con heparina o con anticoagulantes orales.
3. Establecer los Rangos Normales de Referencia en base a las condiciones socioeconómicas de nuestro medio, estableciendo dichos Rangos como un control de calidad dentro del área de coagulación en el Laboratorio Clínico.

## IV. MATERIALES Y METODOS

### Población Estudiada

Se estudiaron doscientas noventa y siete muestras de plasma obtenidas de personas aseguradas, aparentemente sanas, las cuales fueron entrevistadas previamente anotando en una hoja de encuesta los datos personales y familiares que nos sirvieran para afirmar que no tenían manifestaciones clínicas de problemas de sangrado o descartar causas agregadas como uso de medicamentos que influyen en los mecanismos de la hemostasia o estudios fisiológicos como embarazo. (Se adjunta modelo en página No. 31) .

### Colección y Procesamiento de la Muestra

Las muestras sanguíneas fueron colectadas en ayunas mediante venopunción, extrayéndose 4.5 ml. de sangre por cada sujeto en tubos al vacío conteniendo 0.5 ml. de anticoagulante Citrato de Sodio al 3.9%; teniendo sumo cuidado de hacer una buena asepsia en el sitio de venopunción y recolectando las muestras con la menor estasis sanguínea para evitar la hemoconcentración, la hemólisis y microcoágulos con el objeto de disminuir el máximo la posibilidad de obtener datos falsos por una muestra tomada en condiciones no adecuadas.

Las muestras fueron centrifugadas inmediatamente a 3,000 rpm durante diez minutos para obtener el plasma; éste fue separado de las células inmediatamente y trasladado con pipetas pasteur a tubos de ensayo de 12 x 75 mm. Se sellaron los tubos con papel parafilm para luego ser congelados y almacenados a -30 °C., hasta el momento de realizar las pruebas.

Se tomaron muestras de sangre dos a tres veces por semana hasta totalizar doscientas noventa y siete muestras. Cada semana fueron procesadas de veinticinco a cuarenta muestras, usando la técnica correspondiente para cada prueba y utilizando el fibrómetro como equipo. A todas las muestras se les realizaron las siguientes pruebas de coagulación: Tiempo de Trombina, Tiempo de Protrombina, Tiempo Tromboplastina Parcial y Cuantificación de Fibrinógeno.

### Materiales

- Sangre total citratada
- Material para extracción de sangre: agujas descartables para recolección de sangre al vacío, aguja No. 21 G x 1 1/2", sostenedor o adaptador de tubos al vacío Vacutainer, tubo al vacío tapón celeste 12 x 100 mm. con 0.5 ml. de anticoagulante Citrato de Sodio al 3.9 %
- Pipetas serológicas de 2 cc. y 5 cc.

- Puntas plásticas terminales
- Copas plásticas para fibrómetro
- Tubos de ensayo 12 x 75 mm.
- Pipetas pasteur
- Gradillas para tubos
- Lápiz graso
- Papelería
- Fibrómetro
- Centrifuga
- Reactivo de TTP para la determinación de Tiempo de Tromboplastina Parcial.
- Cloruro de Calcio 0.027 Molar para TTP
- Reactivo de Trombina para determinación del Tiempo de Trombina
- Reactivo de Calcio Tromboplastina para Tiempo de Protrombina
- Reactivo de Fibrinógeno para la Cuantificación de Fibrinógeno
- Agua bidestilada
- Papel Parafilm

### Métodos

#### Tiempo de Trombina:

- Principio:

Al mezclar el plasma con el reactivo de trombina se transforma el fibrinógeno en fibrina. El tiempo de Trombina

depende de la concentración de trombina y además de la cantidad de fibrinógeno y de las antitrombinas presentes. (6) Esta prueba mide el paso final de la Vía Común, la cantidad y la calidad del fibrinógeno existente. (5)

- Reactivos:

Reactivo de Trombina (Boehringer Mannheim)

Nota: El contenido de un frasco de trombina debe disolverse con 2 ml. de agua bidestilada 10 minutos antes de su uso.

- Composición del Reactivo:

La solución de Trombina posee una actividad de  $4 \pm 1$  unidades NIH (National Institute of Health) por frasco.

- Procedimiento:

Atemperar el reactivo de Trombina en su envase original o envase plástico a  $37^{\circ}\text{C}$ .

Pipetear en una copa plástica:

Plasma Citratado	0.2 ml
Incubar 2 minutos a $37^{\circ}\text{C}$	
Reactivo de Trombina $37^{\circ}\text{C}$	0.2 ml
Coagulación	

Con la adición del reactivo de Trombina, disparar el cronómetro y determinar el comienzo de la coagulación. (6)

### Lectura de los Resultados

El resultado es la lectura del cronómetro obtenida en segundos.

### Tiempo de Protrombina:

#### - Principio:

El plasma citratado se mezcla con tromboplastina tisular. El tiempo entre la adición del reactivo y la formación del coágulo es la medida del contenido en factor II, V, VII, X y fibrinógeno. (6) El tiempo de Protrombina sirve para evaluar la Via Extrinseca y la Via Común. (5)

#### - Reactivos:

Calcio Tromboplastina (Boehringer Mannheim)

#### - Composición del Reactivo:

El Calcio Tromboplastina se compone de tromboplastina de cerebro de mono y iones calcio. Mediante la adición de un inhibidor de heparina queda asegurado que ésta no influye en la

prueba hasta 2 U / ml de plasma.

- Técnica:

Atemperar el Calcio Tromboplastina a 37°C

Pipetear en una copa plástica:

Plasma Citratado	0.1 ml
Incubar 2 minutos a 37°C	
Calcio Tromboplastina 37°C	0.2 ml
Coagulación	

Con la adición en el Calcio Tromboplastina, disparar el cronómetro y determinar el comienzo de la coagulación. (5)

- Lectura de los Resultados:

El resultado es la lectura del cronómetro obtenida en segundos.

Tiempo Tromboplastina Parcial (TTP)

- Principio:

El plasma citratado se mezcla con reactivos de Tiempo Tromboplastina Parcial. El tiempo de coagulación depende de



todos los factores de coagulación del Sistema Intrínseco. (6)

- Reactivos:

El Reactivo de Tiempo de Tromboplastina Parcial (Boehringer Mannheim) Cloruro de Calcio 0.027 Molar.

- Composición del Reactivo:

La cefalina contenida en el reactivo de Tiempo Tromboplastina Parcial posee las propiedades del Factor 3 Plaquetario. El Caolin añadido activa óptimamente el factor XII proporcionando así un tiempo de medida breve y fácilmente reproducible.

- Procedimiento

Atemperar el Cloruro de Calcio 0.027 Molar a 37 °C.

Pipetear en una copa plástica:

Plasma Citratado	0.1 ml
Reactivo de TTP	0.1 ml
Incubar 3 minutos a 37 °C	
Cloruro Cálcico a 37 °C	0.1 ml
Coagulación	

Con la adición del Cloruro Cálcico, disparar el cronómetro y

determinar el comienzo de la coagulación. (6)

- Lectura de los Resultados:

El resultado es la lectura del cronómetro obtenida en segundos.

Determinación Cuantitativa del Fibrinógeno.

- Principio

Con un exceso de trombina, el tiempo de coagulación depende únicamente del contenido de fibrinógeno del plasma diluido en una razón determinada (método según Clauss). La curva de calibración sirve para calcular el contenido de fibrinógeno en mg/100 a partir del tiempo redondeado. (6) El nivel de fibrinógeno es otra prueba para evaluar la Via Común. (5)

- Reactivos

Reactivo de Fibrinógeno (Boehringer Mannheim)

Solución Tampón pH: 7.35

- Composición del Reactivo:

El reactivo de fibrinógeno (Solución Trombinica) posee una actividad de aproximadamente 20 micras NIH por frasco. Obtención de la Solución lista para el uso:

Disolver el contenido de un frasco de reactivo de Fibrinógeno con dos ml de agua bidestilada y conservarlo en el frasco original.

- Dilución del plasma:

Se diluye el plasma citratado 1:10 con solución tampón pH: 7.35

- Procedimiento:

Pipetear en una copa plástica:

Dilución del plasma citratada	0.2 ml
Incubar 1 minuto a 37 °C	
Reactivo de Fibrinógeno (20 - 25 °C)	0.2 ml
Coagulación	

Añadir el reactivo de fibrinógeno, disparar el cronómetro y determinar el comienzo de la coagulación. La Lectura obtenida en segundos se lleva a una tabla ya establecida para dar el resultado en mg/100 ml. (Ver tabla 2)

Tiempo de Coagulación sec/seg	Concentración de Fibrinógeno		
	mg/100 ml		
	Metodo del clavo	Coagulometro	Fibrometro BBL
5"0	870	840	620
5"5	690	710	540
6"0	600	610	475
6"5	525	550	420
7"0	475	495	380
7"5	415	450	350
8"0	380	415	325
8"5	375	405	305
9"0	350	366	285
9"5	330	340	270
10"0	310	320	260
10"5	295	302	250
11"0	280	290	240
11"5	270	278	231
12"0	260	267	222
12"5	251	258	214
13"0	245	249	207
13"5	234	240	200
14"0	226	232	194
14"5	219	225	189
15"0	214	218	184
15"5	208	212	179
16"0	202	206	175
16"5	197	201	171
17"0	192	196	167
17"5	187	191	163
18"0	182	186	159
18"5	178	182	155
19"0	174	178	152
19"5	170	174	149
20"0	166	170	146
21"0	160	164	141
22"0	154	158	136
23"0	148	152	131
24"0	142	147	126
25"0	137	142	122
26"0	133	138	118
27"0	129	134	115
28"0	126	130	112
29"0	123	127	109
30"0	120	124	106
31"0	117	121	103
32"0	114	118	100
33"0	111	115	98
34"0	108	112	96
35"0	105	109	94
36"0	103	106	92
37"0	101	104	90
38"0	99	102	88
39"0	97	100	86
40"0	95	98	85

## CONTROLES

Se utilizaron como controles, un Pool de plasma normal (que era obtenido al combinar plasmas de pacientes cuyos resultados de las cuatro pruebas en estudio eran normales) y controles comerciales normales, los cuales se procesaban de la misma manera que los plasmas citratados de la población estudiada.

Estos controles eran corridos cada vez que se verificaba una de las pruebas, para comprobar la sensibilidad, especificidad y reproducibilidad de las pruebas en estudio.

## HOJA DE ENTREVISTA

Fecha \_\_\_\_\_ Hora \_\_\_\_\_

Nombre \_\_\_\_\_  
1er. Apellido                      2do. Apellido                      Nombre

Ocupación \_\_\_\_\_

Edad \_\_\_\_\_ años. Sexo:                      F                      M

## II. HISTORIA FAMILIAR

Epistaxis \_\_\_\_\_ Sangrado de encias \_\_\_\_\_

Equimosis \_\_\_\_\_ Otros Hematomas en tejidos Blandos \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ Cirugía Reciente y Sangrado \_\_\_\_\_

## III. HISTORIA PERSONAL

## 1) Sangrados Anormales:

Nariz (Epistaxis)

Encias

Piel (Equimosis o Petequias)

Hematomas

2) Cirugía previa (si hubo o no sangrado) \_\_\_\_\_

3) Enfermedades previas: Riñón \_\_\_\_\_ Hígado \_\_\_\_\_

4) Medicamentos que toma:                      Dosis:                      Tiempo:

Anticoagulantes                      \_\_\_\_\_

Antibióticos                      \_\_\_\_\_

Anticonceptivos                      \_\_\_\_\_

Otros                      \_\_\_\_\_

5) Ingesta de Licor \_\_\_\_\_

6) Si es mujer, si está o no embarazada \_\_\_\_\_

Notas:

## V. RESULTADOS

Con el objeto de establecer los Rangos de Referencia de las pruebas de Tiempo de Trombina, Tiempo de Protrombina, Tiempo de Tromboplastina Parcial y Cuantificación de Fibrinógeno, se estudiaron 297 plasmas de adultos de ambos sexos aparentemente sanos de la población asegurada del Instituto Salvadoreño del Seguro Social, cuyas edades oscilan entre 18 y 65 años.

Para expresar con claridad los rangos de referencia obtenidos se calculó el promedio el cual define la expresión completa de la población normal, y a su vez expresa el centro de la distribución normal. La desviación estandar (DE) indica la dispersión alrededor del promedio. (21)

La fórmula usada para obtener los rangos de referencia de las cuatro pruebas en estudio fue la siguiente:

$$DE = \sqrt{\frac{(X_1 - X)^2}{n-1}}$$

Desglosando la fórmula en 2 etapas:

Etapa "A" Promedio = Suma de los Análisis

n

n = Número de Mediciones

Etapa "B"

$$DE = \sqrt{\frac{\text{Suma de los Cuadrados de las diferencias del promedio}}{n - 1}}$$

$\sum X_i$  = Sumatoria de cada una de las observaciones

$\sum \bar{X}$  = Suma de las diferencias del promedio

n - 1 = Número de observaciones menos uno

DE = A la raíz cuadrada de la sumatoria de cada uno de las observaciones ( $\sum X_i$ , menos la sumatoria de las diferencias del promedio ( $\sum \bar{X}$ ) al cuadrado, sobre el número de observaciones menos uno (n -1)(21).

Los datos obtenidos se sometieron a un proceso estadístico, que refleja la distribución de los mismos. (Ver cuadros y gráficas del número 1 al 4) Para establecer los rangos de referencia en segundos en el Tiempo de Trombina, Tiempo de Protrombina, Tiempo de Tromboplastina Parcial y los mg % para la Cuantificación de Fibrinógeno se utilizó el intervalo:

$$\bar{X} \pm 2$$



Donde:

$\bar{X}$  = Representa el promedio de los datos

$\sigma$  = Representa la desviación standar de los datos

( Esto indica la dispersión o distribución de los datos alrededor del promedio). (21)

Tomando en cuenta el valor del promedio y el valor de (DE) se tiene que el rango de referencia para el tiempo de Trombina es:

$$\bar{X} \pm 2 \sigma$$

Donde :  $\bar{X}$  21.13 Seg. = 2.17 Seg.

Luego : Rango de Referencia = 21.13 Seg.  $\pm$  2 (2.17 Seg.)

Rango de Referencia = 21.13 Seg.  $\pm$  4.34 Seg.

Rango de Referencia = 16.79 - 25.47 Seg.

Los cuadros 2, 3 y 4 representan la tabulación de los datos obtenidos de las pruebas de Protrombina, Tromboplastina Parcial y Cuantificación de Fibrinógeno y de igual manera que se calculó el rango de referencia anterior se calculan los siguientes rangos.

Tiempo de Protrombina:

Rango de Referencia = 13.24 Seg.  $\pm$  2 (0.94 Seg.)

Rango de Referencia = 13.24 Seg.  $\pm$  1.88 Seg.

Rango de Referencia = 11.13 - 15.12 Seg.

Tiempo de Tromboplastina Parcial:

Rango de Referencia = 30.79 Seg.  $\pm$  2 (2.47 Seg.)

Rango de Referencia = 30.79 Seg.  $\pm$  4.94 Seg.

Rango de Referencia = 25.85 - 35.73 Seg.

Cuantificación de Fibrinógeno:

Rango de Referencia = 323 Mg %  $\pm$  2 (35 Mg %)

Rango de Referencia = 323 Mg %  $\pm$  70 Mg %

Rango de Referencia = 253 - 393 Mg%

Por otra parte:

Observando el área de los gráficos número: 1, 2, 3 y 4 se ve claramente que la dispersión de los datos con respecto al valor promedio se amplia; esto es debido a que los datos que fueron sometidos a dichas pruebas se consideran que provenían de personas sanas.

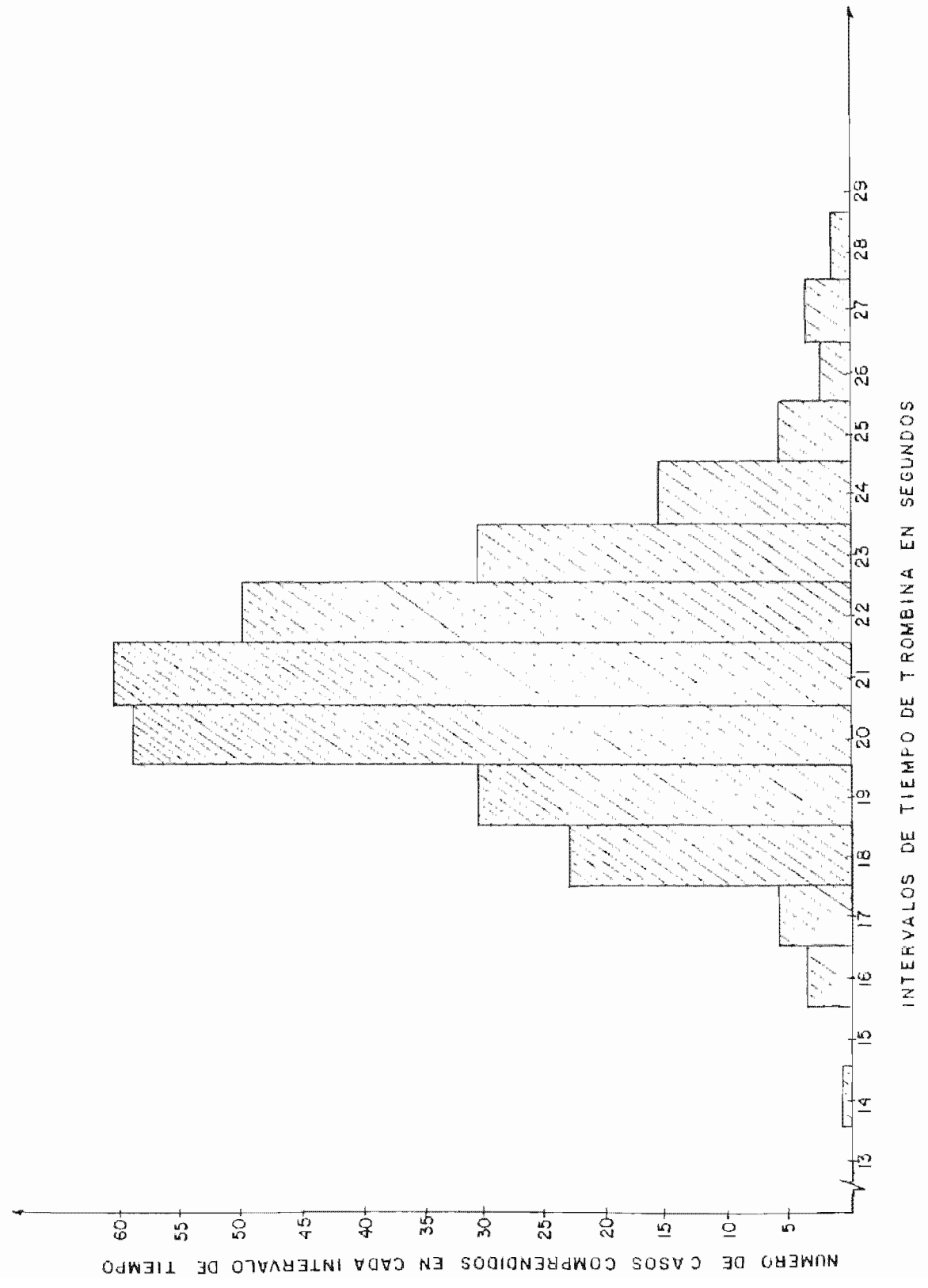
Para visualizar y evaluar mejor los Rangos de Referencia obtenidos de las pruebas efectuadas se presentan los valores finales en el cuadro No. 5 Pág. (45)

## RANGOS DE TIEMPO DE TROMBINA

INTERVALOS DE TIEMPO DE TROMBINA (SEGUNDOS)	FRECUENCIA	% DE FRECUENCIA
13.60 — 14.60	1	0.34
14.60 — 15.60	0	0.00
15.60 — 16.60	4	1.35
16.60 — 17.60	6	2.02
17.60 — 18.60	23	7.74
18.60 — 19.60	31	10.44
19.60 — 20.60	59	19.87
20.60 — 21.60	61	20.54
21.60 — 22.60	50	16.83
22.60 — 23.60	31	10.43
23.60 — 24.60	16	5.39
24.60 — 25.60	6	2.02
25.60 — 26.60	3	1.01
26.60 — 27.60	4	1.35
27.60 — 28.70	2	0.67
TOTAL DE CASOS . . . . .	279 . . . . .	100.00 %

EN ESTE CUADRO SE OBSERVA QUE DE LAS 279 MUESTRAS PROCESADAS, HUBO UNA VARIACION DE 13.60 A 28.70 SEGUNDOS EN EL TIEMPO DE TROMBINA, PRESENTANDOSE EL MAYOR PORCENTAJE (20.54 %) EN EL INTERVALO 20.60 - 21.60 SEG. EN 61 MUESTRAS.

DIAGRAMA No 1



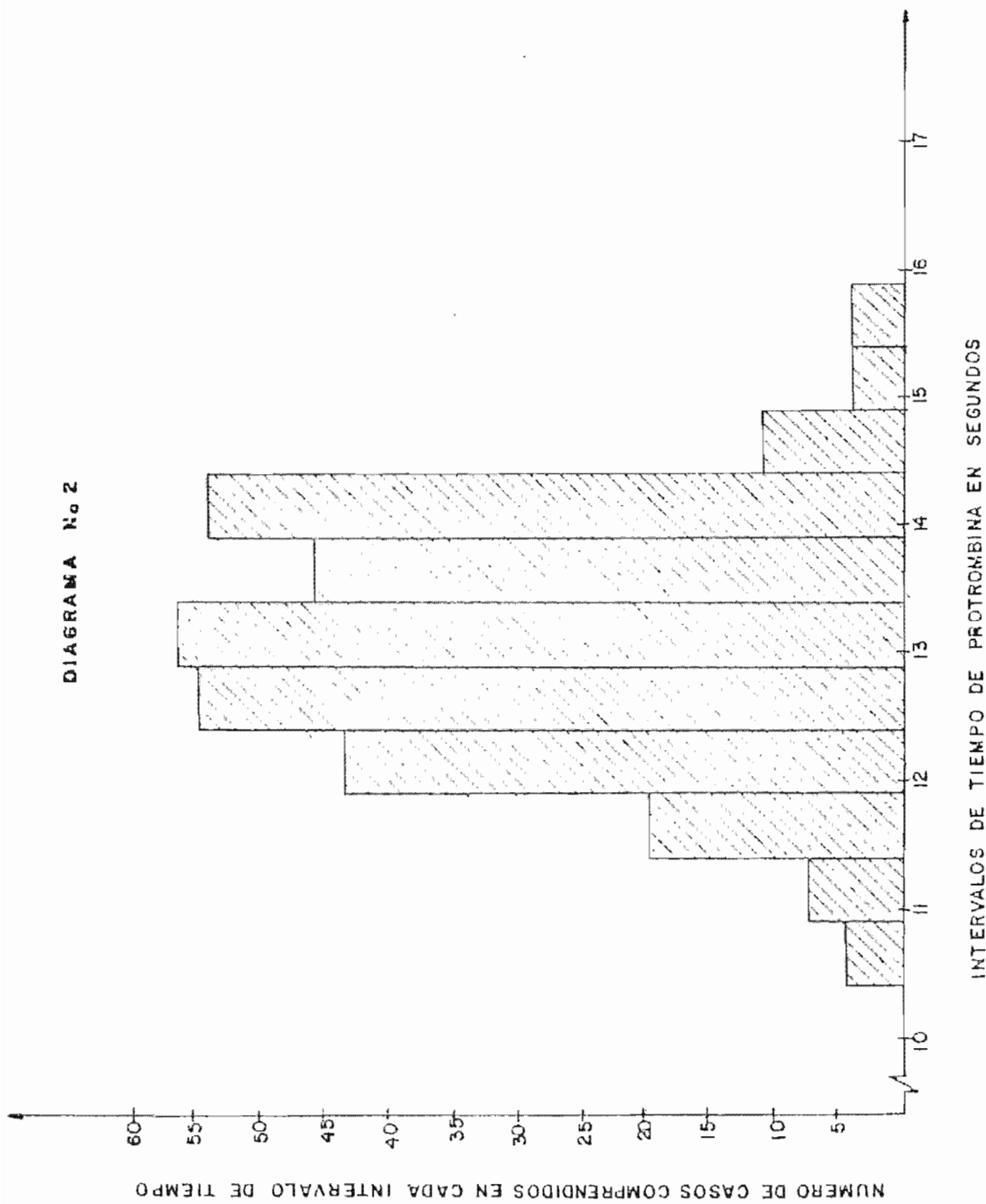
CUADRO No 2

## RANGOS DE TIEMPO DE PROTROMBINA.

INTERVALOS DE TIEMPO DE PROTROMBINA (SEGUNDOS)	FRECUENCIA	% DE FRECUENCIA
10.40 - 10.90	4	1.34
10.90 - 11.40	7	2.36
11.40 - 11.90	19	6.40
11.90 - 12.40	43	14.48
12.40 - 12.90	54	18.18
12.90 - 13.40	56	18.86
13.40 - 13.90	45	15.15
13.90 - 14.40	53	17.85
14.40 - 14.90	10	3.36
14.90 - 15.40	3	1.01
15.40 - 15.90	3	1.01
TOTAL DE CASOS . . . . .	. . . . . 297 . . . . .	. . . . . 100.00 %

EN ESTE CUADRO SE OBSERVA QUE DE LAS 297 MUESTRAS ESTUDIADAS HUBO UNA VARIACION DE 10.40 A 15.90 SEGUNDOS EN EL TIEMPO DE PROTROMBINA, DANDOSE UN PORCENTAJE MAYOR (18.86 %) EN EL INTERVALO DE 12.90-13.40 SEGUNDOS EN 56 MUESTRAS.

DIAGRAMA N° 2



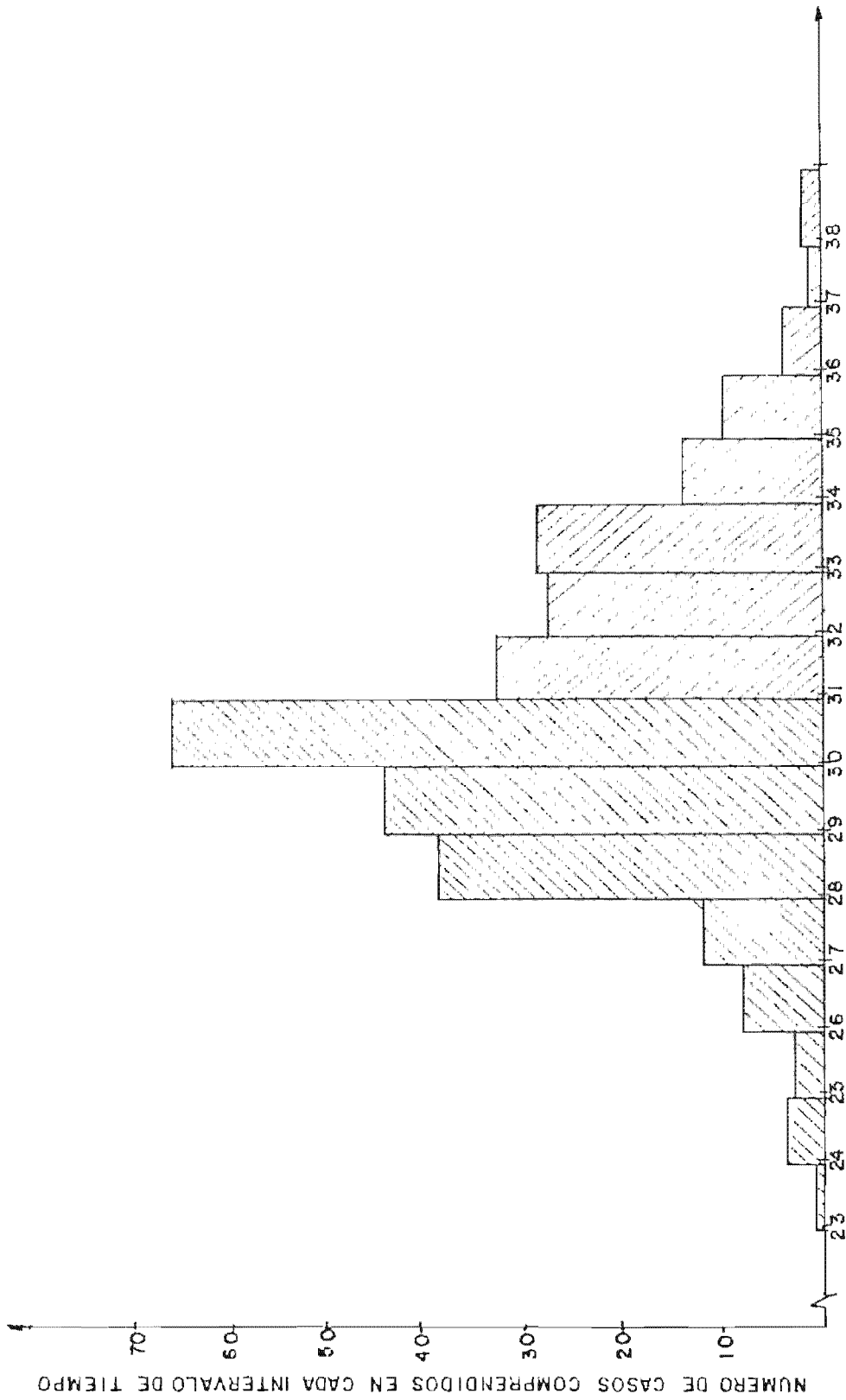
## RANGOS DE TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL.

INTERVALOS DE TIEMPO.TROMBOPLAS TINA PARCIAL . (SEGUNDOS)	FRECUENCIA	% DE FRECUENCIA
22.90 — 23.90	1	0.34
23.90 — 24.90	4	1.35
24.90 — 25.90	3	1.01
25.90 — 26.90	8	2.69
26.90 — 27.90	12	4.04
27.90 — 28.90	38	12.79
28.90 — 29.90	44	14.81
29.90 — 30.90	66	22.22
30.90 — 31.90	33	11.11
31.90 — 32.90	28	9.43
32.90 — 33.90	29	9.76
33.90 — 34.90	14	4.71
34.90 — 35.90	10	3.37
35.60 — 36.90	4	1.35
36.90 — 37.90	1	0.34
37.90 — 38.90	2	0.67
TOTAL DE CASOS	297	100.00 %

EN ESTE CUADRO SE OBSERVA QUE DE LAS 297 MUESTRAS PROCESADAS, HUBO UNA VARIACION DE 22.90 A 38.90 SEGUNDOS EN EL TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ,PRESENTANDO EL MAYOR PORCENTAJE (2222 %) EN EL INTERVALO DE 29.90-30.90 SEG. EN 66 MUESTRAS.

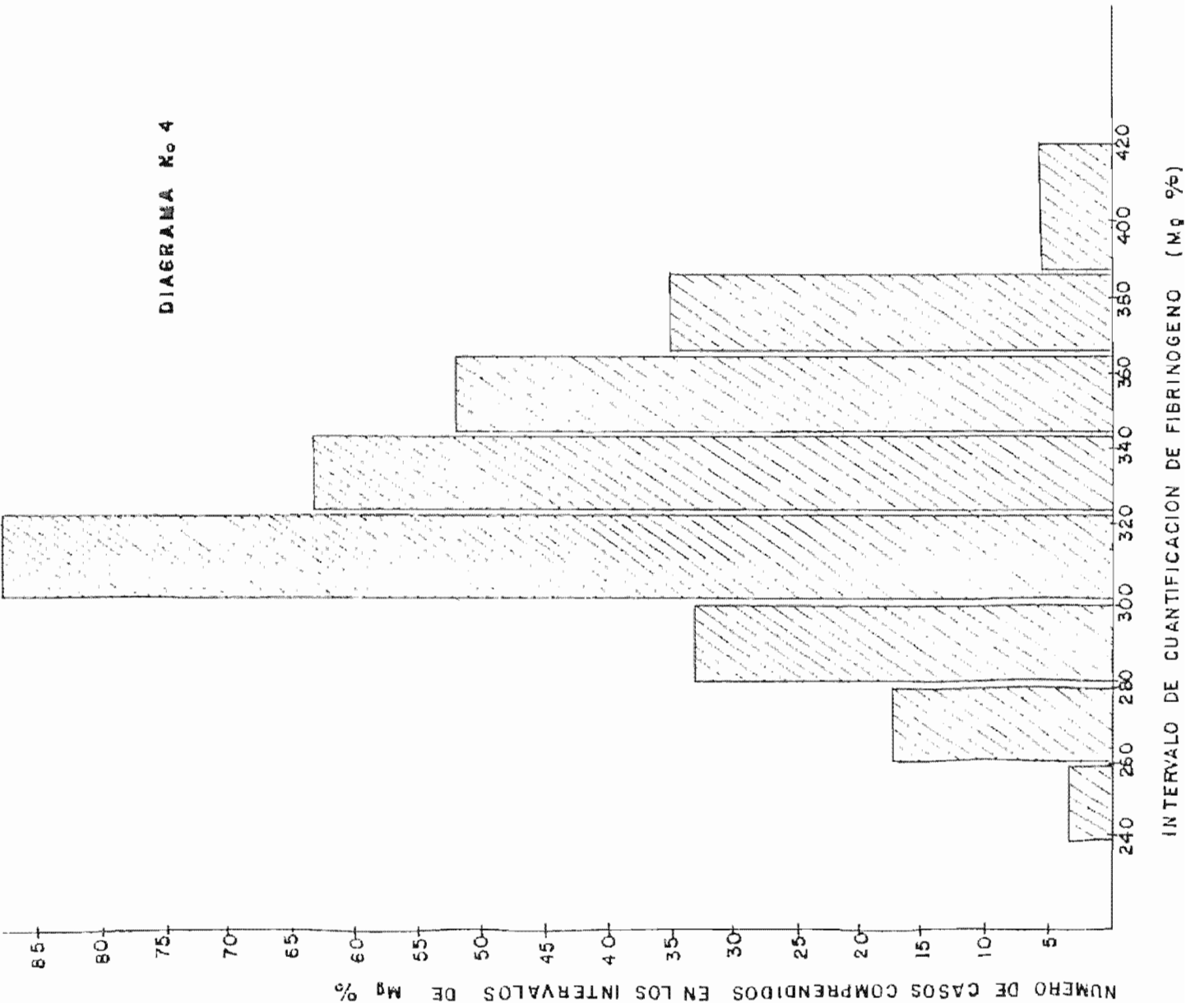


DIAGRAMA K o 3



INTERVALOS DE TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL, EN SEGUNDOS.

DIAGRAMA N.º 4



CUADRO N<sup>o</sup> 4  
**VALOR EN Mg. % DE FIBRINOGENO.**

INTERVALO DE Mg. % DE FIBRINOGENO	FRECUENCIA	% DE FRECUENCIA
239 — 259	3	1.01
260 — 280	17	5.72
281 — 301	33	11.11
302 — 322	88	29.64
323 — 343	63	21.21
344 — 364	52	17.51
365 — 385	35	11.78
386 — 420	6	2.02
TOTAL DE CASOS . . . . .	. . . . . 297 . . . . .	. . . . . 100.00 %

EN ESTE CUADRO SE OBSERVA QUE DE LAS 297 MUESTRAS PROCESADAS, HUBO UNA VARIACION DE 239 A 420 Mg % DE FIBRINOGENO, PRESENTANDOSE EL MAYOR PORCENTAJE (29.64 %) EN EL INTERVALO DE 302 A 322 Mg % EN 88 MUESTRAS.

CUADRO N.º 5

RANGOS DE REFERENCIA PARA LAS PRUEBAS DE  
 TIEMPO DE TROMBINA, TIEMPO DE PROTROMBINA,  
 TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL Y CUANTIFICACION DE FIBRINOGENO.

P R U E B A S	R A N G O S	R E F E R E N C I A S	
		$\bar{x}$	2 $\sigma$
TIEMPO DE TROMBINA	16.79 — 25.47 SEG.	21.13	2.17
TIEMPO DE PROTROMBINA	11.02 — 14.78 SEG.	13.24	0.94
TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL	25.85 — 35.73 SEG.	30.79	2.47
CUANTIFICACION DE FIBRINOGENO	253 — 393 Mg %	323	35

## VI. DISCUSION

En el presente trabajo se han establecido los Rangos de Referencia para el Tiempo de Trombina, Tiempo de Protrombina, Tiempo de Tromboplastina Parcial y Cuantificación de Fibrinógeno en la población adulta estudiada.

La Coagulación de la sangre es una serie de reacciones enzimáticas que involucra: Proteínas plasmáticas, Fosfolípidos y Iones de Calcio para la formación de una red de fibrina, que detiene el sangrado. (24)

Las proteínas que toman parte en el proceso de la coagulación actúan como un sistema amplificador que permite que el muy pequeño producto iniciador de unas pocas moléculas, induzca una serie completa de reacciones proteolíticas. (24)

El proceso de coagulación se lleva a cabo a través de la vía intrínseca y la vía extrínseca, las cuales convergen en la vía final común, donde la Trombina cataliza la conversión del Fibrinógeno en Fibrina.

El Tiempo de Tromboplastina Parcial se utiliza como prueba selectiva para evaluar la integridad de la vía intrínseca, el Tiempo de Protrombina evalúa la vía extrínseca y el Tiempo de Trombina específicamente mide el cambio de Fibrinógeno en Fibrina.

(5)

Estas pruebas mínimas son sencillas y de gran utilidad para detectar básicamente los problemas de trastornos hemorrágicos. Pueden realizarse en todos los laboratorios y no sólo en aquellos que cuentan con aparatos especializados ya que también se verifican manualmente, con mucha exactitud bajo personal entrenado.

En este trabajo los datos obtenidos se compararon con un "pool" o mezcla de plasmas frescos de sujetos normales combinados utilizados diariamente como control normal y con controles normales liofilizados de la casa Boehringer. Los rangos obtenidos correlacionaron con los establecidos por esta casa comercial. Las condiciones de trabajo para efectuar estos análisis, fueron las recomendadas por la Casa Manufacturera. Por lo tanto, consideramos que nuestros resultados son aceptables; sin embargo, algunos resultados dieron fuera de los límites normales en una cantidad mínima (10.7%); esto se debe a varios factores tales como:

a) los pacientes al momento de encuestarlos no daban una información fidedigna sobre su historia clínica con una patología comprobada, lo cual los hubiera eliminado de este estudio, b) en la toma y manejo de la muestra, c) una dilución incompleta del anticoagulante, d) error de pipeteo, e) condiciones de almacenamiento, f) contaminación de las muestras, g) preparación de los reactivos, h) calidad del agua utilizada, así

como las limitaciones de tipo mecánico del fibrómetro.

Es de gran importancia al reportar los resultados de estas pruebas de coagulación, comparar el dato del tiempo en segundos, obtenido diariamente del "pool" de plasmas utilizados como control normal para que se pueda comparar el resultado del paciente tratado en las mismas condiciones y, nunca se haga con los rangos de referencia en porcentajes o segundos que vienen en la literatura que acompaña a cada set, ya que éste rango únicamente nos indica que los valores obtenidos del "pool" o mezcla del plasma normal se salen del rango porque hubo algún problema con el manejo del reactivo al ser procesado o almacenado. El uso de plasmas comerciales de rangos normales, fundamentados en el principio de que un producto basado en plasma humano y preparado bajo condiciones controladas de manufactura, producirá valores reproducibles de rutina cuando estos son usados como control para las diferentes pruebas de coagulación, por lo que se recomienda su uso. La desventaja del uso de los plasmas comerciales para nuestro medio es su costo elevado y no siempre están disponibles. (4, 7, 10, 15)

Es imperativo que cada laboratorio al efectuar las pruebas de coagulación utilice controles y establezcan sus propios rangos de referencia. De ahí que el empleo constante de controles es esencial si se desean obtener resultados fidedignos, clínicamente significativos y establecer un monitoreo efectivo de la ejecución

de las pruebas de coagulación.

Para establecer sus propios rangos de referencia cada laboratorio debe obtenerlos utilizando un personal debidamente entrenado y bajo sus propias condiciones físicas, ambientales, técnicas y de equipo, ya que estas pruebas son utilizadas como referencia en el tratamiento de los pacientes anticoagulados con heparina ó con anticoagulantes orales.

En este trabajo no se encontró diferencia de sexo ni de edad. Se reconoce que en éste estudio fue mínima la población asegurada estudiada debido a la escasez de reactivos que existía cuando se llevó a cabo el presente trabajo.



## VII RECOMENDACIONES Y CONCLUSIONES

1. En el proceso de las pruebas de coagulación para evitar alteraciones en los resultados es necesario tener sumo cuidado en:
  - a) Obtener una extracción limpia
  - b) En la preparación de los reactivos, con los diluyentes exactos y preservación establecida.
  - c) En la dilución exacta del anticoagulante para la toma de muestra.
  - d) Evitar la contaminación de las muestras.
  
2. Se hace énfasis que cada prueba de coagulación debe tener un control normal con respecto a la muestra del paciente, por lo tanto cada prueba de coagulación se hace por duplicado (control y paciente) para mayor exactitud y seguridad del examen.
  
3. Desde el punto de vista clínico se considera que:
  - a) El Tiempo de Protrombina y el Tiempo de Trombina, son normales con respecto al control normal si no existe una diferencia de más de 2 segundos.

- b) Para el Tiempo de Tromboplastina Parcial es normal si no existe una diferencia de más de 10 segundos.
- c) El Fibrinógeno es normal con respecto al control normal, entre el rango de 300 a 450 mg.%

## VIII. BIBLIOGRAFIA

- 1.- Akkerman, J. Bouma, B. and Sixma, J.: Atlas on Hemostasis, Department of Hematology, University Hospital Utrecht (The Netherlands), Boehringer Ingelheim, International GMBH, 1981.
- 2.- Bloch, M.: Adquisiciones recientes en el conocimiento de la Hemostasis y la Trombosis, Revista del Instituto de Investigaciones Médicas. Hospital Rosales. San Salvador, El Salvador, C.A., 6 (1) 7-22, 1977.
- 3.- Claht, Grupo.: Técnicas de Hemostasia y Trombosis. Grupo Cooperativo Latinoamericano en Hemostasia y Trombosis. Editor: Dr. Miguel Pavlosvsky. Auspicio: No.1 Division Interamericana Sociedad Internacional de Hematología. No2 Programa de Intercambio de Hematólogos Latinoamericanos. Capítulo: I y II, Buenos Aires, Junio 1975.
- 4.- Clauss, A: Acta Haemat.17:237-246 (1957)
- 5.- Fischbach, D. and Fogdall, R.: Coagulation, The Essentials Williams & Wilkins, Baltimore/ London, 1982.
- 6.- Folleto:Nuestro Programa Hemo-Coagulación. Diagnóstico, Control del Curso, Boehringer Mannheim. Gmmbh Diagnóstica D-6800 Mannheim 31. República Federal Alemana.
- 7.- Fowell, AH:Am.J.Clin. Path. 25:340--342 (1955).
- 8.- Girón, C.: "Importancia del Establecimiento del Rango de los Valores Normales de una Población". Conferencia para Profesionales y Estudiantes. Auditorium de CAESS. San Salvador, 26 de Febrero de 1983. (Apuntes Personales).

- 9.- Harker, L.: Hemostasis Manual. Edition 2, F.A. Davis Company Philadelphia, R.A. 1974.
- 10.- Koepke,JA, Gilmer,PR,Filip,DJ and Eckstein,MD:Am.J.Clin. Path. 63: 984-989 (1974).
- 11.- Leavel Thorup.: Hematologia Clinica. Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V., México, D.F., 1983
- 12.- Lynch, M.J. Raphael, S.S., Mellor. L.D., Spare, P.D., Inwood M.J.H.: Métodos de Laboratorio, 2da. Ed., Nueva Interamericana, México 1972.
- 13.- Llort, J., Majano, R.L. y Quiñones, G.E.: Parámetro de Coagulación en Recién Nacidos a Término. Revista de la Sociedad Pediátrica de El Salvador 8 (3) 221-226, 1978
- 14.- Ortho Diagnostics: Procedimientos para el Laboratorio de Hemostasia. Retiran, New Jersey, 1975.
- 15.- Parfentjev, JA, Johnson, ML and Clifton, EE: Arch Biochem. 46: 470-480 (1953)
- 16.- Platt, W.R., Atlas de Hematología en color. Primera edición. Editorial Jims, Barcelona, 1972
- 17.- Poon, M.Ch.: Trastornos de la Coagulación: Laboratorio y Diagnóstico. Tribuna Médica, 287: 2-7, 1980
- 18.- Quiñones, G.E.: Manual de Hemostasis. Teoría y Práctica. Universidad de El Salvador, Facultad de Medicina, Departamento de Educación Media, San Salvador, Mayo de 1978.
- 19.- Rivera, H. y Marroquin, S.: Técnicas de Laboratorio para el estudio de la Hemostasis. Revista del Instituto de Investigaciones Médicas. Hospital Rosales, San Salvador, El

Salvador, C.A. 6 (1) 82-90, 1977.

- 20.- Schwartz, Lillehei, Shires, Spencer, Storer.: Principles of surgery, tercera edición chapter 3, 1979. McGraw-Hill Book Company.
- 21.- Shao, S.P.: Estadística para Economistas y Administradores de Empresa, 12 ava. Edición en Español, Editado por Herrero Hermanos, Sucs., México, D.F., 1976.
22. Tood Sanford-Davidson.: Diagnóstico y Tratamiento Clínico por el Laboratorio, Tomo II, 7a. Edición, Salvat Editores, S.A., España, 1984.
- 23.- Triplett Douglas A., M.D., VanderSluys Cora, M.T., Folleto: The Importance of Establishing the Normal Population Range in Coagulation Testing, Ortho Diagnostics, U.S.A., 1980.
24. Veetkamp Jam J., M.D., Bruce L. Evatt, M.D., Lewis S. Mitchell, M.D., Lothe Francis, M.D., Arthur James, M.D. : Fundamental Diagnostic Laboratory Hematology, Capitulo 1, Pág. 8, Atlanta - Georgia.
25. Wilbourn, R.: Técnica de Control en el Laboratorio de Coagulación. Monografía Científica, Edita.: DADE información. Barcelona, España.
26. Wintrobe, M.M., Richard Lee, Dane R. Boggs and Thomas C. Bitell, Clinical Hematology. Tercera Edición. Traducida de la 6a. Edición Norteamericana, Inter Médica. Editorial Buenos Aires, Argentina 1969.