

Evaluación del tiempo de protrombina y tiempo de tromboplastina parcial en sangre total

Palabras clave: Tiempo de protrombina, tiempo de tromboplastina parcial, sangre total.

Key words: Prothrombin time, partial thromboplastin time, whole blood.

Recibido: 19/03/2007.
Aceptado: 11/05/2007.

Eliseo Ruiz-Bedolla,* Briceida López Martínez,* Isabel Dionisio-Abraján*

* Laboratorio Clínico. Hospital Infantil de México, «Federico Gómez».

Correspondencia:
Eliseo Ruiz-Bedolla
Hospital Infantil de México, “Federico Gómez” Laboratorio Clínico
Dr. Márquez Núm. 162
Col. Doctores 06720
México, D. F.
Tel. 52289917 ext 1305
E-mail: labhim@yahoo.com.mx

Resumen

Se determinó el TP y TTP en sangre total de niños de diferentes edades, utilizando como anticoagulante citrato dextrosa fosfato (CDP). Se estudiaron 196 muestras de sangre del mismo número de pacientes, determinando el TP y TTP en plasma y en sangre total. Los valores para TP en plasma fueron de 12 a 14 segundos, con una media de 12.4 segundos y una DE de ± 1.4 . Los valores de TP en sangre total fueron de 14 a 17 segundos con una media de 15.3 segundos y una DE de ± 1.3 . El TTP en plasma fue de 20 a 40 segundos con una media de 35.1 segundos y una DE ± 11.0 . El TTP en sangre total fue de 22 a 40 segundos con una media de 34.9 segundos y DE ± 10.8 . Los valores de TTP en plasma y en sangre total prácticamente son los mismos; por lo tanto, estas determinaciones pueden hacerse en plasma o en sangre total con la ventaja que al utilizar sangre total se necesita extraer solamente 0.5 mL.

Abstract

In this paper we present the evaluation of PT and PTT in whole blood using CDP as anticoagulant. We analyzed 196 blood samples to determinate PT and PTT in whole blood and plasma. The values obtained for PT in plasma were 12 to 14 seconds with a media of 12.4 seconds and SD ± 1.4 . The values of PT for whole blood were 14 to 17 seconds with a media of 15.3 seconds and SD ± 1.3 . The PTT for normal plasma is 20 to 40 seconds with media of 35.1 seconds and SD ± 11.0 ; the values for whole blood were 22 to 40 seconds with media of 34.9 seconds and SD ± 10 . We therefore have think that for these determinations plasma or whole blood may be used; with the advantage that when whole blood is used the amount needed is just 0.5 mL.

Introducción

Para efectuar una biometría hemática se requieren 2 mL de sangre, utilizando EDTA como anticoagulante y para determinar el tiempo de protrombina (TP) y tiempo de tromboplastina parcial (TTP) se necesitan otros dos mL de sangre, utilizando como anticoagulante citrato de sodio al 3.8%, haciendo un total de 4 mL de sangre. Para obtener esta cantidad de sangre en lactantes menores, prematuros y recién nacidos, en ocasiones puede ser hasta traumático. Para evitar tomar esta cantidad de sangre –4 mL– hemos evaluado el citrato-dextrosa-fosfato (CDP) como anticoagulante para efectuar la biometría hemática.¹ Teniendo en cuenta que el citrato ácido dextrosa ha sido considerado como un anticoagulante mejor que la heparina para la conservación de las proteínas y enzimas celulares,² se decidió evaluar el citrato dextrosa fosfato (CDP) con la finalidad de efectuar los tiempos de coagulación, como el TP y TTP en una sola muestra de sangre. Esto surgió porque algunos autores han sugerido el uso de anticoagulantes buferizados para conservar por más tiempo los compuestos de la sangre sin que sufran alteraciones. Además, se hizo pensando en los niños recién nacidos, prematuros y lactantes, ya que solamente se necesitarían 2 mL de sangre para efectuar la biometría completa y el TP y TTP.

Algunos autores han considerado el CDP como anticoagulante ideal porque mezclado con la sangre se tiene un pH de 7.46, muy cercano al pH fisiológico, característica que hace que los eritrocitos no se hemolicen. Los leucocitos conservan su viabilidad durante mayor tiempo, inclusive más que con la heparina.² Los eritrocitos y plaquetas pueden sobrevivir hasta una semana y los factores de coagulación VII, IX, X, XI, protrombina y fibrinógeno no se modifican en las primeras 24 horas después de extraída la muestra de sangre.³ Se pensó en utilizar el CDP ya que éste se emplea en los bancos de sangre para conservar los dife-

rentes componentes de la sangre. Tenemos dos años utilizando el CDP como anticoagulante para la biometría hemática en un Coulter Counter modelo ACT5 DIFF y también en un Coulter Counter modelo MAX M sin que hasta la fecha se presente algún problema. Después comenzamos a utilizar el CDP como anticoagulante para la determinación de TP y TTP con buenos resultados.⁴ Por lo tanto, también estamos utilizando el CDP desde hace aproximadamente 2 años para la determinación de TP y TTP y hemos decidido utilizarlo definitivamente en lugar del citrato de sodio al 3.8%. Recientemente, otros autores utilizaron el CDP como anticoagulante para la determinación de TP y TTP en pacientes oncológicos, obteniendo muy buenos resultados.⁵ En un principio, de una sola muestra de sangre se determinaba la biometría hemática; después, el plasma era separado para la determinación de TP y TTP. Con los datos anteriores, ahora nos proponemos utilizar sangre total para la determinación de TP y TTP con la finalidad de extraer al paciente la menor cantidad posible. En la literatura no se encontraron reportes de estudios realizados en sangre total; por lo tanto, éste es nuestro objetivo: investigar la diferencia que puede haber al determinar el TP y TTP en sangre total, utilizando CDP como anticoagulante.

137

Material y métodos

La determinación de TP y TTP se hizo en plasma y en sangre total de una misma muestra. Las determinaciones se efectuaron en 196 muestras obtenidas de niños de ambos sexos de diferentes edades. Se obtuvieron 2 mL de sangre venosa utilizando CDP como anticoagulante. Para la determinación de TP se utilizó reactivo de trombo-*rel S* marca Dade-Behring y para cuantificar el TTP se utilizó tromboplastina parcial líquida activada de la misma marca. Las determinaciones en plasma y en sangre total se efectuaron en un fibrómetro marca Becton Dickinson modelo 5.⁵

El anticoagulante CDP se prepara como se indica en la referencia I y se coloca 0.1 mL en un frasco o tubo de ensayo para 2 mL de sangre. En refrigeración, el anticoagulante se conserva por tiempo indefinido.

Primero se determinaron los tiempos de TP y TTP en sangre total, después la muestra de sangre fue centrifugada para separar el plasma y en éste se hicieron las mismas determinaciones.

Los datos se procesaron con el paquete de programas Excel para windows y se presentan en forma de cuadros y figuras.

Resultados

Tiempo de protrombina en plasma y en sangre total

En el cuadro I se presenta la frecuencia de valores de TP obtenidos en sangre total y en plasma. Como puede observarse en el cuadro I, el TP en sangre total es de 2 a 3 segundos más que en las determinaciones efectuadas en plasma; esta diferencia de tres segundos es constante, inclusive para tiempos prolongados (cuadro II). Es preciso hacer notar que la diferencia se observó en la misma muestra de sangre, lo cual descarta la posibilidad de que la diferencia

de valores sea por variaciones fisiológicas o por el tratamiento terapéutico aplicado al paciente. El valor promedio obtenido en plasma es de 12.4 segundos y para sangre total es de 15.3 segundos, obteniendo una desviación estándar (DE) = ± 1.3 para sangre total con una varianza de 1.79. La desviación estándar de los valores de TP en plasma es de ± 1.4 y varianza de 1.95 (cuadro III).

Los valores de referencia para TP en plasma son de 12 a 14 segundos y para sangre total es de 14 a 17 segundos; estos valores expresados en porcentaje son de 73 a 100% en ambos. Esto indica que no hay diferencia de valores al hacer la curva de calibración para el TP determinado en sangre total o en plasma, como se puede observar en la figura 1. En la figura 2 se presenta la correlación entre los valores de TP obtenidos en plasma y en sangre total, para los que se obtuvo un coeficiente de correlación de 0.98 con un valor de $t = 8.1$ y $p < 0.01$.

Tiempo de tromboplastina parcial en sangre y en plasma

Para TTP se obtuvieron valores muy similares tanto en plasma como en sangre total con rango de 20 a 40 segundos (cuadro IV).

Cuadro I. Valores de TP obtenidos en plasma y en sangre total.

Plasma		Sangre total		Diferencia de valores
Valor de TP en segundos	Frecuencia	Valor de TP en segundos	Frecuencia	En segundos
11.5	10	13.5	12	2.0
12.0	36	14.0	39	2.0
12.5	47	15.0	48	2.5
13.0	45	16.0	45	3.0
14.0	36	17.0	29	3.0
15.0	13	18.0	14	3.0
$\bar{x} 12.4$	—	15.3	—	—
DE 1.4	—	1.3	—	—
Varianza 1.95	—	1.79	—	—

Cuadro II. Valores prolongados de TP obtenidos en este estudio.					
Valores expresados en segundos			Valores expresados en %		
Plasma	Sangre total	Diferencia	Plasma	Sangre total	Diferencia
16	19	3	54	54	0
16	19	3	54	54	0
17	19	2	51	51	0
18	21	3	45	45	0
19	22	3	42	42	0
20	22	2	39	42	3
24	27	3	29	29	0
25	28	3	27	27	0
34	37	3	25	25	0
Testigo	Testigo				
12"	14"				

Valores de TP expresados en segundos y los mismos expresados en % observando en la última columna de la derecha que no hay diferencia de resultados.

139

Cuadro III. Resultados obtenidos de TP y TTP en plasma y sangre total en 196 muestras analizadas.					
Tiempo de protrombina en segundos			Tiempo de tromboplastina parcial en segundos		
Muestra	Plasma	Sangre total	Plasma	Sangre total	
\bar{x}	12.4	15.3	35.1	34.9	
DE	1.4	1.3	11.0	10.8	
Rango	12-14	14-17	20-40	22-40	

Para tiempos prolongados, los valores obtenidos también son muy similares, con diferencia de solamente dos segundos en dos muestras (*cuadro V*).

Únicamente 43 muestras (21.9%) mostraron diferencia de valor de una unidad. Por lo tanto, los valores considerados como normales son los mismos para plasma y para sangre total.

Los valores de referencia para TTP en plasma son de 20 a 40 segundos y para sangre total de 22 a 40 segundos (*cuadro III*). La desviación estándar de los valores de TTP en plasma es de ± 11.0 con un valor promedio de 35.1 segundos. El valor promedio obtenido de TTP en sangre total es de 34.9 con una desviación estándar de ± 10.8 .

En la *figura 3* se presenta la correlación entre los valores de TTP obtenidos en plasma y en sangre total para los que se obtiene un coeficiente de correlación de 0.95 con un valor de $t = 9.7$ y $p < 0.001$.

Discusión

El tiempo de protrombina es una de las pruebas clínicas de laboratorio más importante para el diagnóstico de las alteraciones del sistema de coagulación de la sangre. Se utiliza en las valoraciones preoperatorias para diagnosticar el riesgo en complicaciones de sangrado, para el monitoreo de

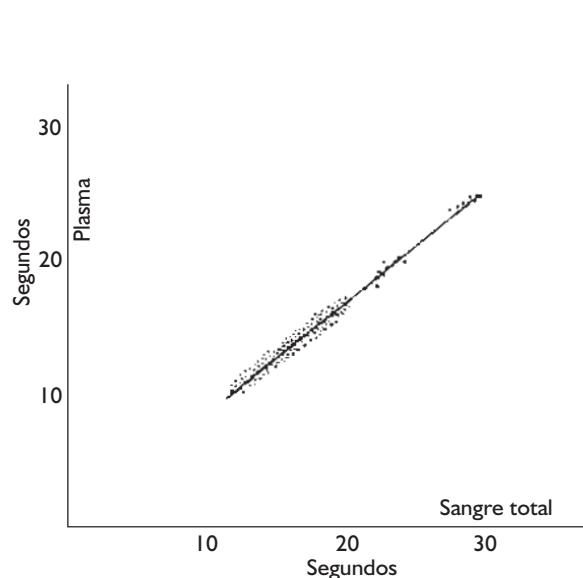


Figura 1. Trazo de calibración del tiempo de protrombina en sangre total y en plasma.

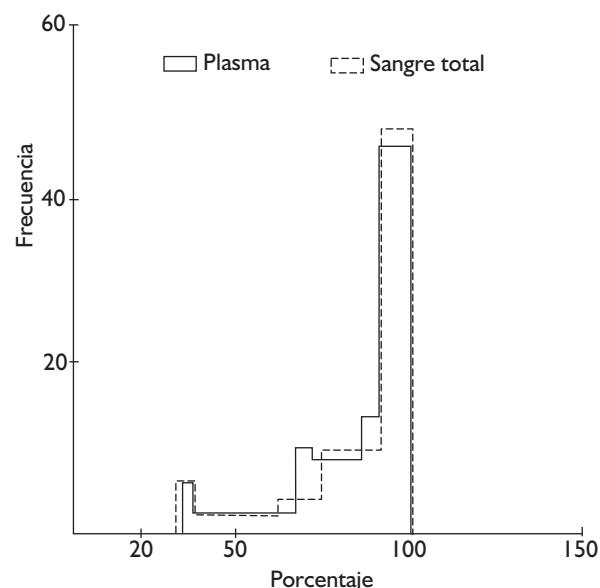


Figura 2. Correlación entre valores de tiempo de protrombina obtenidos de plasma y de sangre total.

140

Cuadro IV. Valores de TTP obtenidos en este estudio.

Frecuencia	Valores iguales			Valores diferentes			
	Plasma	Sangre total	Diferencia de valores	Plasma	Sangre total	Diferencia de valores	
	Valor en segundos	Valor en segundos	En segundos	Frecuencia	Valor en segundos	Valor en segundos	En segundos
8	20	20	0	3	20	21	1
6	21	21	0	1	21	19	2
5	22	22	0	1	21	22	1
8	23	23	0	3	22	20	2
9	24	24	0	3	22	23	1
12	25	25	0	4	23	24	1
12	26	26	0	2	24	23	1
11	27	27	0	1	26	27	1
16	28	28	0	3	28	29	1
7	30	30	0	4	29	30	1
6	32	32	0	2	30	31	1
7	34	34	0	1	30	32	2
5	35	35	0	5	31	32	1
9	36	36	0	2	34	36	2
4	37	37	0	2	39	40	1
16	40	40	0				
Total	141				Total 37		

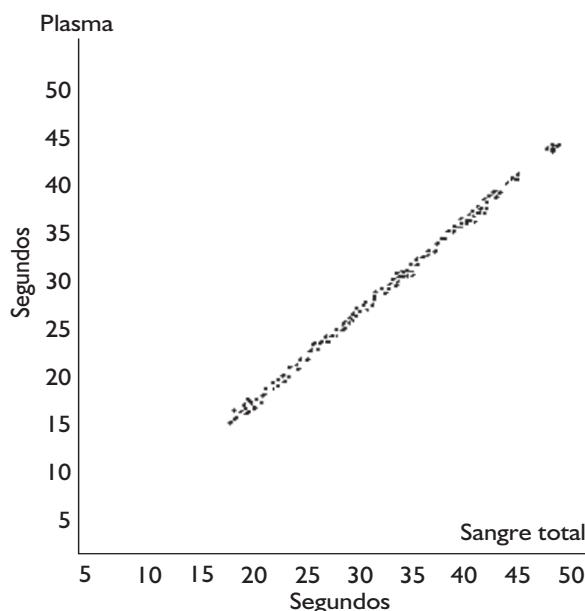


Figura 3. Correlación de los valores del tiempo de tromboplastina parcial en plasma y en sangre total.

pacientes que ya han sido tratados con terapia anticoagulante oral y para la valoración de la función hepática.⁶⁻⁸ Debido a lo relevante y delicado, no se ha intentado modificar la prueba del TP ni los reactivos utilizados, además porque, en sí, la prueba es muy sencilla.

El tiempo de tromboplastina parcial ha reemplazado al tiempo de coagulación de sangre completa y al tiempo de recalcificación, debido a que ambos son difíciles de estandarizar, tienen rangos de referencia amplios y son insensibles a anomalías leves de coagulación y hasta moderadamente severas. El TTP es suficientemente sensible para detectar únicamente anomalías de concentración o de actividad de los factores XII, XI, IX y VIII.⁹⁻¹² El TP es sensible para detectar deficiencias, incluso leves, en las actividades de los factores VII, X, II (dependientes de la vitamina K) y V, y sólo se ve alterado por muy bajas concentraciones de fibrinógeno (< 80 mg/dL).^{12,13}

Anteriormente, para efectuar la biometría hemática se utilizaba como anticoagulante una mezcla de oxalato de sodio y potasio y más recientemente se utilizan las sales de EDTA. Para las

Cuadro V. Valores prolongados de TTP en sangre total y plasma

Frecuencia	Plasma	Sangre Total		Diferencia de valores En segundos
		Valor en segundos	Valor en segundos	
4	50	50		0
1	42	41		1
1	44	43		1
1	45	44		1
1	50	48		2
1	51	50		1
1	61	60		1
1	85	83		2

pruebas de coagulación se utilizó el citrato de sodio que preserva mejor algunos factores de coagulación y el plasma puede ser almacenado por más tiempo.¹⁰ El citrato de sodio generalmente se utiliza al 3.8% con una proporción de un volumen de citrato y 9 volúmenes de sangre. Este anticoagulante algunos autores lo han recomendado como diluyente para la cuenta de plaquetas, y en opinión de otros es recomendable agregarle un buffer para efectuar las reacciones de coagulación, con el fin de mantener el pH cercano al fisiológico y preservar por mayor tiempo los factores de coagulación.

Tomando en cuenta estos antecedentes, decidimos evaluar el CDP, del cual, una vez mezclado con la sangre, se obtiene un pH de 7.46. Esto se hizo con el fin de extraerle al paciente la menor cantidad posible de sangre.

Para efectuar la biometría hemática, el citrato de sodio al 3.8% no se había utilizado como anticoagulante debido a que se encuentra en forma líquida. Un volumen de citrato de sodio con nueve de sangre implicaría una dilución de la sangre en aproximadamente 10%, además de que se altera la morfología de las células. Para evitar estos problemas, utilizamos el CDP con citrato de sodio al 7.6% para emplear menor cantidad de an-

ticoagulante y además lo evaporamos a 8 °C quedando únicamente húmedo el frasco. De esta forma no se alteran los valores de hematocrito, hemoglobina, cuenta total de leucocitos ni la morfología de los eritrocitos y los leucocitos.¹ Tampoco se altera la proporción citrato-sangre, pues el citrato se prepara al doble de su concentración y se utiliza la mitad del volumen.

Hasta fechas recientes, la heparina estaba considerada como el anticoagulante ideal; sin embargo se ha observado que el CDP mantiene sin cambios por más tiempo a los leucocitos. Con heparina se destruyen hasta 80% de leucocitos en 24 horas y con ACD solamente se destruyen 18%.² El CDP preserva mejor la actividad metabólica de las células; esto se debe a que el CDP contiene glucosa y mantiene la glucólisis en las células; además se conservan durante más tiempo los factores de coagulación.

Lo anterior quedó comprobado al utilizar CDP y hacer las cuentas de células sanguíneas inmediatamente después de extraer la muestra de sangre y 8 horas después de tomadas las muestras, observando que no hay diferencia de resultados.¹ También se confirma con los valores obtenidos de TP y TTP en plasma y en sangre total, los cuales fueron muy similares en ambos casos. Al comparar los valores de varianza en sangre total (1.79) y en plasma (1.95) pensamos que es posible determinar el tiempo de protrombina con igual precisión en plasma o en sangre total. Como se observa en el cuadro III, los valores obtenidos para el TTP en plasma y en sangre total prácticamente son los mismos. También, como puede observarse en las figuras 1 y 2 los valores de TP en plasma y sangre total son prácticamente los mismos; por lo tanto pensamos que es indistinto utilizar plasma o sangre total para hacer las determinaciones de TP y TTP.

Por otra parte, es importante mencionar que el coágulo formado al utilizar sangre total se forma de una manera más rápida y consistente; en cambio, con el plasma en algunas muestras el coá-

gulo comienza en forma de filamentos delgados, en ocasiones muy difíciles de observar, resultando tiempos de coagulación prolongados. Esto no se observó en ninguna muestra de sangre total.

Por los resultados obtenidos, consideramos que se puede utilizar como anticoagulante el CDP para efectuar la biometría hemática y los tiempos de coagulación TP y TTP, de tal manera que es posible efectuar los exámenes antes mencionados con solamente 1 mL de sangre total. Esto representa hasta 3 mL de sangre menos y con los cuales se pueden hacer otras determinaciones bioquímicas o inmunológicas que en ocasiones no se efectúan porque es difícil extraer mayor cantidad de sangre al paciente.

Con los resultados obtenidos se tienen dos opciones: la primera es que el TP y TTP se pueden efectuar en sangre total con sus respectivos testigos; la segunda es que si no se acepta efectuar los tiempos de coagulación en sangre total, primariamente se utiliza la sangre completa para efectuar la biometría hemática y la muestra sobrante es centrifugada para separar el plasma y efectuar con éste el TP y TTP, como ya se hizo por otros investigadores en pacientes oncológicos.⁵

En conclusión, se propone el uso de CDP como anticoagulante para efectuar la biometría hemática, el TP y TTP en sangre total, esto será de gran beneficio para los niños, pues con menor cantidad de sangre es posible hacer mayor número de exámenes de laboratorio, lo cual ayuda para lograr un diagnóstico más rápido y aplicar el tratamiento adecuado lo más rápido posible.

Referencias

- Ruiz BE, Dionisio AI. Valoración del citrato dextrosa fosfato como anticoagulante para efectuar la biometría hemática. Rev Mex Patol Clín 1996; 42: 119-121.
- Branum E, Cummins L, Bartilson M et al. Effect of two anticoagulants on leukocyte yield and function and on lysosomal enzyme activity. Clin Chem 1988; 34: 110-113.
- Heinrich JJ. Pruebas de coagulación sanguínea. En: Sonnenwirth AC, Jarett L. Métodos y diagnósticos del laboratorio clínico. 8a ed. México: Editorial Médica Panamericana, 1983: 927-952.

4. Ruiz BE. Determinación del tiempo de protrombina y tiempo de tromboplastina parcial utilizando citrato dextrosa fosfato como anticoagulante. *Rev Mex Patol Clín* 1996; 44: 158-161.
5. Torrella GA, Toledo GR, Hondares CM, Calañas SL. Evaluación del anticoagulante citrato dextrosa fosfato para la determinación de parámetros hematológicos en pacientes oncológicos. *Rev Mex Patol Clín* 2003; 50(2): 77-81.
6. Sachman AL, Grimer PF. Diagnostic uses of the activated partial thromboplastin time and prothrombin time. *Ann Intern Med* 1986; 104: 810-816.
7. Kaplan EB, Sheiner LB, Boeckman AJ et al. The usefulness of preoperative laboratory screening. *JAMA* 1985; 253: 3576-3578.
8. Lewis SM. Standardization in haematology. *Lab Medica* 1988; 5: 25-29.
9. Kitchens CS. Prolonged activated partial thromboplastin time of unknown etiology: a prospective study of 100 consecutive cases referred for consultation. *Am J Hematol* 1988; 27: 38-45.
10. Koepke JA. Partial thromboplastin time test proposed performance guidelines. (ICSH panel on the PTT). *Tromb Haemost* 1986; 55: 143-144.
11. Sachman AL, Mushlin AI. Howell does the activated partial thromboplastin time predict postoperative hemorrhage? *JAMA* 1986; 256: 750-753.
12. Loeliger EA, Poller L, Samama M et al. Questions and answers on prothrombin time standardization in oral anticoagulant control. *Tromb Haemost* 1985; 54: 515-517.
13. Loeliger EA, Besselaar AM, Lewis SM. Reliability and clinical impact of the normalization of the prothrombin times in oral anticoagulant control. *Tromb Haemost* 1985; 53: 148-154.