
ARTÍCULO ORIGINAL

Valores de referencia para las pruebas de coagulación en México: utilidad de la mezcla de plasmas de donadores de sangre

Adriana Calzada-Contreras,* Manuel Moreno-Hernández,* Noemí Patricia Castillo-Torres,* Guadalupe Souto-Rosillo,* Jesús Hernández-Juárez,** María Tania Ricardo-Moreno,** María Guadalupe de Jesús Sánchez-Fernández,** América García-González,** Abraham Majluf-Cruz**

* Laboratorio General, Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Cardiología Dr. Luis Méndez,
** Unidad de Investigación Médica en Trombosis, Hemostasia y Aterogénesis, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

Reference values for the blood coagulation tests in Mexico: usefulness of the pooled plasma from blood donors

ABSTRACT

Introduction. The blood coagulation system maintains the blood in a liquid state and bleeding and thrombosis are the manifestations of its malfunction. Blood coagulation laboratory evaluates the physiology of this system. **Objective.** To establish both, the reference values for several tests performed at the blood coagulation laboratory as well as the utility of the pooled plasma to perform these assays. **Material and methods.** In this descriptive, cross-sectional, randomized study, we collected plasma from Mexican Mestizos. Each pooled plasma was prepared with the plasma from at least 20 blood donors. We performed screening and special tests and the Levey-Jennings graphs were built and interpreted after each pass. Results of the tests were analyzed and their distribution was established using the Kolmogorov-Smirnov test. To establish the reference values we used 95% confidence intervals. **Results.** We collected 72 pooled plasmas. The distribution for PT, APTT, and TT tests was abnormal. Although the PT test showed a bimodal distribution it was normal for factor VII. The reference values for the hemostatic, anticoagulant, and fibrinolytic factors were different from those suggested by the manufacturers. **Conclusion.** We established the reference values for the blood coagulation tests in the adult Mexican population. We have shown that the pooled plasma must be used for the screening tests. We suggest that each clinical laboratory should establish its own reference values (at least for the screening tests). To reach this objective, we encourage the use of the pooled plasma.

Key words. Blood coagulation tests. Reference values. Prothrombin time. Activated partial thromboplastin time. Hemostatic factors.

RESUMEN

Introducción. El sistema de coagulación mantiene la sangre líquida, las hemorragias y las trombosis son manifestaciones de su disfunción. El laboratorio de coagulación permite evaluar la fisiología del sistema. **Objetivo.** Establecer los valores de referencia de las pruebas del laboratorio de coagulación y la utilidad de la mezcla de plasmas. **Material y métodos.** Estudio descriptivo, transversal, aleatorizado. Se obtuvo el plasma de mestizos mexicanos. Cada mezcla se preparó con al menos 20 donadores. Se realizaron pruebas de escrutinio y especiales, se construyeron gráficas de control de Levey-Jennings y se interpretaron en cada corrida. Los resultados de las variables se analizaron con medidas de tendencia central y se estableció su distribución con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Para establecer los valores de referencia se determinaron los intervalos de confianza (95%) con base en percentiles 2.5-97.5. **Resultados.** Se obtuvieron 72 mezclas de plasma. Contrario a lo que se creía en México la distribución del TP, TTPa y TT fue anormal. El TP tuvo una distribución bimodal aunque el factor VII tuvo una distribución normal. Los valores de referencia de los factores hemostáticos, anticoagulantes y fibrinolíticos fueron diferentes de los comerciales. **Conclusión.** Se establecieron los valores de referencia para las pruebas de coagulación en población adulta mexicana. Se demostró que se debe usar la mezcla de plasmas para las pruebas de escrutinio. Se sugiere que todo laboratorio establezca sus propios valores de referencia (al menos para las pruebas de escrutinio), para ello, emplear la mezcla de plasma de donadores adultos facilitaría esta práctica en el laboratorio clínico.

Palabras clave. Pruebas de coagulación. Valores de referencia. Tiempo de protrombina. Tiempo de tromboplastina parcial activada. Factores hemostáticos.

INTRODUCCIÓN

El sistema de coagulación es un sistema biológico que mantiene la sangre líquida mediante diferentes mecanismos que actúan equilibradamente: vasculares, plasmáticos, celulares y de regulación natural.¹ Éstos se caracterizan por trabajar simultánea y ordenadamente para mantener la integridad del vaso sanguíneo.²

Ante un daño endotelial, el fenotipo anticoagulante cambia a procoagulante para evitar la pérdida hemática,^{1,3} fenómeno que recibe el nombre de hemostasia, dividida en dos etapas: primaria, en la cual intervienen las plaquetas, el factor de von Willebrand (FvW) y el vaso mismo; y la secundaria, en la cual intervienen los factores hemostáticos que se activan para formar el coágulo de fibrina. Luego de la reparación tisular, la fibrinólisis disuelve el coágulo para recanalizar el vaso sanguíneo.^{3,4} Todos estos eventos están controlados estrechamente por los sistemas reguladores naturales, incluyendo a los anticoagulantes de los cuales los principales son las proteínas C (PC) y S (PS) y la antitrombina (AT).

Si el sistema de coagulación no funciona adecuadamente aparecen estados patológicos como hemofilia o trombofilias, ambos de enorme repercusión en el ser humano. Trombofilia es todo estado fisiopatológico en el cual el riesgo de sufrir una trombosis aumenta; por el contrario, hemofilia es todo estado en el cual existe un aumento del riesgo de hemorragia. Ambas situaciones pueden estar determinadas por causas congénitas o adquiridas.^{5,6}

Las pruebas que se realizan en el laboratorio de coagulación, de escrutinio o especiales, son herramientas importantes para evaluar la fisiología de este sistema.^{7,8} Para hacerlas útiles al clínico y que le permitan tomar una decisión diagnóstica o terapéutica es necesario garantizar la calidad de los resultados en las diferentes etapas del proceso analítico.^{9,10} Una característica fundamental de algunas pruebas de coagulación es que no utilizan valores de referencia sino los datos obtenidos de una mezcla de plasma de donadores. El resultado de la mezcla de plasmas debe ser el parámetro comparativo para establecer un diagnóstico de laboratorio, específicamente para las pruebas basadas en el tiempo de coagulación.

El concepto *valor de referencia* fue aceptado en 1979 por la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC). En México, los valores de referencia que se utilizan para las pruebas de coagulación son los que sugieren las casas comerciales que ofrecen

reactivos específicos para cada prueba; sin embargo, estos valores se obtuvieron en otros países y quizás no debieran ser aplicados a nuestra población. Así, en México se desconocen los valores de referencia reales de todas las proteínas del sistema de la coagulación.

OBJETIVO

Los objetivos de este trabajo fueron establecer los valores de referencia de las pruebas de escrutinio y especiales del laboratorio de coagulación y la utilidad de la mezcla de plasmas de donadores de sangre mexicanos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Durante febrero 2010 a junio 2011, en este estudio descriptivo, observacional, transversal y aleatorizado, se obtuvieron las muestras de plasma de mestizos mexicanos, aptos para la donación de sangre de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana 003 SSA2-1993. Antes de obtener la muestra de sangre, a cada donador se le informó de la naturaleza del estudio y de cada uno se obtuvo el consentimiento por escrito. Para determinar la confiabilidad de la media de referencia se recomienda como mínimo 20 o más valores, así, cada mezcla se preparó con el plasma de al menos 20 donadores (diez hombres y diez mujeres). Las muestras de sangre se obtuvieron en tubos al vacío con citrato de sodio a 3.2% (Vacutainer, Beckton Dickinson, Rutherford, NJ, USA) (relación vol:vol = 1:9). Se excluyeron las muestras mal aforadas, lipémicas, ictericas o hemolizadas.

Los tubos se centrifugaron por 15 min a 2,000 g para obtener el plasma pobre en plaquetas (PPP). Al terminar, los PPP se separaron mediante aspiración gentil con una pipeta Pasteur desechable y se mezclaron para obtener una sola muestra dentro de las primeras 4 h de la extracción de la sangre. Las pruebas se realizaron en un sistema automático de medición coagulométrica (Sta-Compaq, Stago, Asniers, Francia), siguiendo la metodología aceptada mundialmente para las diferentes pruebas de escrutinio y especiales.

Se realizaron las siguientes pruebas:

Tiempo de protrombina (TP), tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa), tiempo de trombina (TT), fibrinógeno (Fg), actividad de los factores hemostáticos II, V, VII, VIII, IX, X, XI y XII (empleando la técnica que utiliza plasmas deficientes en

el factor correspondiente). Las muestras se descongelaron a 37°C durante 5 min antes de su análisis.

Se analizaron el TP (Neoplastin® Plus, Diagnóstica Stago), TTPa (STA APTT, Diagnóstica Stago) y TT (STA Thrombin, Diagnóstica Stago) en las pruebas basales y diluidas 1:2 y 1:4, respectivamente.

El fibrinógeno (Fg) (STA Fibrinogen, Diagnóstica Stago) y los factores hemostáticos II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII (STA factor, Diagnóstica Stago); la PS (STA Protein S Clotting, Diagnóstica Stago), la PC (STA Protein C Clotting, Diagnóstica Stago) y la prueba para establecer la resistencia a la proteína C activada (RPCA) (Staclot® APC-R, Diagnóstica Stago) se determinaron mediante métodos coagulométricos.

La cuantificación del antígeno del FvW (FvW:Ag) se hizo mediante un ensayo inmuno-turbidimétrico (STA Liatest® vWF, Diagnóstica Stago).

Por otro lado, las proteínas AT (STA Antithrombin III, Diagnóstica Stago), plasminógeno (STA Plasminogen, Diagnóstica Stago) y α_2 -antiplasmina (STA Antiplasmin, Diagnóstica Stago) se cuantificaron por métodos cromogénicos.

La concentración plasmática de todas las proteínas evaluadas se expresó en porcentaje de actividad, excepto la concentración de Fg (mg/dL).

El anticoagulante lúpico (AL) se determinó mediante un método coagulométrico. Se evaluaron cuatro pruebas comerciales: PTT-LA (Diagnóstica Stago), Staclot® LA (Diagnóstica Stago), STA® Staclot® DRVV Screen (Diagnóstica Stago) y Staclot® DRVV Confirm (Diagnóstica Stago), todas ellas basadas en el tiempo de coagulación de la muestra. Como se aprecia, se eligieron los reactivos de una sola casa comercial debido al alto grado de calidad que ofrece en sus productos, un punto que era importante para asegurar la calidad de las pruebas que se ejecutaron para este estudio.

Para el control de calidad se utilizó un plasma control normal y otro patológico comercial. Con los

resultados se construyeron las gráficas de control de Levey-Jennings y se interpretaron en cada corrida de muestras. En relación con la estabilidad del reactivo, una vez retirados del refrigerador, se dejaron por 1 h a temperatura ambiente. El vial que contenía el liofilizado del plasma de la proteína en estudio y los plasmas citratados para control normal y patológico se reconstituyeron con 1 mL de agua inyectable. Todos se dejaron reposar a temperatura ambiente por 1 h para permitir la hidratación adecuada. Transcurrido el tiempo se mezclaron suavemente para homogeneizarlos, sin formar espuma. Una vez reconstituidos, los reactivos fueron estables por 8 h entre 15 y 19°C. Lo anterior de acuerdo con las especificaciones del fabricante.

Análisis estadístico

Los resultados de todas las variables se analizaron con medidas de tendencia central y de dispersión. Además, se estableció su distribución mediante la prueba estadística de Kolmogorov-Smirnov. Utilizamos un análisis de varianza para comparar el resultado del TP y TTPa basales contra sus diluciones correspondientes. Para establecer los valores de referencia se determinaron los intervalos de confianza (95%) con base en percentiles 2.5 a 97.5. Todos los análisis estadísticos se realizaron empleando el programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) (versión 16; SPSS Inc., Chicago, Ill., USA).

RESULTADOS

Se obtuvieron 72 mezclas de plasma (de un total de 1,440 donadores de sangre) a las que se les realizaron las pruebas de hemostasia de escrutinio y especiales para conocer los valores de referencia. Para todas las variables estudiadas, los resultados del análisis descriptivo y los valores de referencia

Cuadro 1. Resultados para el TP, TTPa y TT en la mezcla de plasmas de donadores mexicanos (n = 72).

Variable (s)	Distribución*	Mínimo	Máximo	Media	DE	CV	Mediana	VR
TP	< 0.001	12.3	14.0	13.1	0.3	2.3	13.0	12.5-13.7
Dilución-TP 1:2	0.131	16.7	20.4	18.7	0.7	3.7	18.8	17.4-20.0
Dilución-TP 1:4	0.019	26.6	36.2	31.8	1.9	6.0	32.0	27.6-35.1
TTPa	0.001	28.0	33.7	31.6	0.8	2.5	31.5	30.0-33.0
Dilución-TTPa 1:2	> 0.2	37.9	48.7	42.9	2.1	4.9	42.9	39.5-47.8
Dilución-TTPa 1:4	0.150	67.0	89.4	77.2	5.7	7.4	76.7	67.6-88.1
TT	0.003	17.5	20.0	18.6	0.6	3.2	18.5	17.7-20.0

DE: desviación estándar. CV: coeficiente de variación. VR: valores de referencia. *Distribución anormal si p < 0.05.

Cuadro 2. Resultados de los factores hemostáticos en la mezcla de plasmas de donadores mexicanos (n = 72).

Variable	Distribución*	Mínimo	Máximo	Media	DE	CV	Mediana	VR
Fibrinógeno (mg/dL)	> 0.2	250.0	367.0	313.3	22.5	7.2	317.0	279.8-355.0
FII	0.185	87.0	122.0	101.0	7.5	7.4	102.0	88.0-116.0
FV	> 0.2	82.0	132.0	100.0	10.0	10.0	99.0	84.0-119.0
FVII	0.165	92.0	133.0	112.0	9.9	8.8	113.0	93.0-129.0
FVIII	> 0.2	84.0	150.0	118.0	18.1	15.3	118.0	87.0-148.0
FIX	> 0.2	94.0	151.1	124.0	13.2	10.6	125.0	98.0-150.0
FX	0.168	90.0	117.0	103.0	5.9	5.7	102.0	93.0-113.0
FXI	> 0.2	77.0	154.0	108.0	17.0	15.7	106.0	79.0-138.0
FXII	0.021	61.0	133.0	87.0	11.3	13.0	86.0	65.0-105.0
FvW:Ag	0.075	78.0	119.0	98.0	8.1	8.3	99.0	85.0-114.0

Las concentraciones plasmáticas de los factores II-XII y el FvW se expresan en porcentaje de actividad. FvW:Ag: factor de von Willebrand antigenólico. *Distribución anormal si p < 0.05. DE: desviación estándar. CV: coeficiente de variación. VR: valores de referencia.

Cuadro 3. Resultados de las pruebas especiales en la mezcla de plasmas de donadores mexicanos (n = 72).

Variable	Distribución*	Mínimo	Máximo	Media	DE	CV	Mediana	VR
Antitrombina	0.164	87.0	121.0	109.0	6.5	6.0	110.0	97.0-118.0
Proteína S	0.079	77.0	126.0	105.0	9.8	9.3	107.0	86.0-121.0
Proteína C	< 0.001	80.0	132.0	117.0	8.6	7.3	118.0	98.0-128.0
Resistencia a la proteína C activada	> 0.2	124.9	177.1	147.7	11.9	8.0	149.1	130.0-172.9
Plasminógeno	0.002	96.0	118.0	106.0	5.2	4.9	105.0	98.0-117.0
Alfa 2 antiplasmina	0.038	90.0	129.0	111.0	9.9	8.9	113.0	92.0-128.0
Anticoagulante lúpico de escrutinio	0.041	35.8	45.4	40.6	1.8	4.4	40.6	36.7-43.9
Anticoagulante lúpico confirmatorio	0.043	31.1	36.8	34.2	1.2	3.5	34.4	31.8-36.3
Tiempo de tromboplastina parcial activada sensible al anticoagulante lúpico	> 0.2	37.5	49.9	44.0	2.5	5.7	44.1	39.2-49.2
Anticoagulante lúpico con fosfolípidos hexagonales de escrutinio	0.067	53.2	71.1	60.7	4.5	7.4	60.0	53.4-68.9
Anticoagulante lúpico con fosfolípidos hexagonales confirmatorio	0.011	50.0	68.1	57.7	4.4	7.6	56.6	51.4-65.8

Los resultados de las pruebas RPCA, AL-e, AL-c, TTPa-AL, FL-Hex-e y FL-Hex-c se expresan en segundos. La concentración plasmática de las proteínas AT, S, C, Pg y α_2 -AP se expresan en porcentaje de actividad. *Distribución anormal si p < 0.05. DE: desviación estándar. CV: coeficiente de variación. VR: valores de referencia.

obtenidos se muestran en los cuadros 1-3. El análisis para el TP, TTPa (y sus diluciones) y TT se muestra en la figura 1. Los resultados muestran que los límites inferior y superior de los valores de referencia encontrados en este trabajo son más estrechos que los sugeridos por el fabricante de los reactivos empleados. El análisis estadístico mostró que la distribución de los valores fue anormal para las siguientes pruebas: TP, TTPa, TT, FXII, PC, plasminógeno, α_2 -antiplasmina y para varias de las pruebas que se emplean para hacer el diagnóstico de la presencia del AL: la prueba de escrutinio del AL, la prueba confirmatoria de AL y la prueba confirmatoria empleando fosfolípidos hexagonales.

DISCUSIÓN

En México las enfermedades aterotrombóticas y la enfermedad tromboembólica venosa son un problema de salud pública grave y su incidencia va en aumento. Aunque no hay datos precisos, se infiere que la incidencia puede ser hasta 300,000 casos/año con una mortalidad de 30,000-45,000 casos/año.¹¹ Por otra parte, la incidencia de las enfermedades y complicaciones hemorrágicas asociadas a múltiples patologías quizás sea del orden de miles de casos/año. Así, las pruebas que evalúan al sistema de coagulación son una herramienta clave en la medicina moderna,^{12,13} ya que permiten monitorear al paciente antes

de una cirugía o controlar el tratamiento procoagulante o antitrombótico.¹⁴ Por esto, es indispensable que toda unidad de atención médica cuente con un laboratorio que ofrezca resultados útiles para establecer diagnósticos y tratamientos adecuados, aunque se requiere que la calidad de los resultados y su interpretación sean apropiados.¹⁵ Sin embargo, en México se desconocen los valores de referencia de todas las proteínas del sistema de la coagulación.

Para estudiar las enfermedades hemorrágicas existen pruebas de escrutinio y especiales. Si las primeras (TP, TTPa, TT) están prolongadas se hacen de inmediato las diluciones y correcciones respectivas.^{15,16} Si el resultado inicial corrige, existe deficiencia de un factor hemostático y se procede a cuantificar el factor sospechoso; si no hay corrección, quizás exista un inhibidor de algún factor plasmático.^{17,18} La concentración baja de un factor hemostático predispone a la hemorragia¹⁹ y su aumento se asocia con eventos trombóticos.^{20,21} Para las trombosis hay pruebas que evalúan los sistemas anticoagulantes naturales, la fibrinólisis y algunos estados protrombóticos específicos. Los anticoagulantes naturales son las proteínas C y S y la AT. La PC regula a los factores activados V y VIII y la PS es su cofactor.^{22,23} La AT inhibe a la trombina y a los factores activados XI, IX y X, así como a la plasmina y a la calicreína.²⁴ La RPCA es un fenómeno en el que la actividad del sistema de la PC es baja, por lo que aumenta la generación de trombina.²⁵ En la fibrinólisis, el plasminógeno se transforma en plasmina, la cual degrada los polímeros de fibrina para disolver el coágulo.²⁶ La α_2 -antiplasmina, principal inhibidor de la plasmina, evita la lisis del coágulo temprana, por lo que su deficiencia se asocia con hemorragia.²⁶ Por otra parte, los anticuerpos antifosfolípidos, una familia heterogénea de inmunoglobulinas dirigidas contra fosfolípidos aniónicos o complejos fosfolípidos-proteínas, incluye a los anticuerpos anticardiolipina y al AL, un inhibidor adquirido que prolonga *in vitro* las pruebas hemostáticas dependientes de fosfolípidos²⁷ pero que *in vivo* se asocia con trombosis arterial o venosa y/o pérdida fetal recurrente.²⁸

La calidad de los resultados del laboratorio de coagulación es crítica y para garantizarla es necesario atender a varios factores que alteran la eficacia, precisión y exactitud de los resultados.^{29,30} Asimismo, es indispensable conocer los valores de referencia de estas pruebas.³¹ El concepto *valor de referencia* se define como el conjunto finito de valores desde un límite inferior hasta uno superior contra el cual se compara el valor obtenido en una medición y que se obtiene al evaluar una población sana caracterizada por sexo, raza y edad,³² este último es el factor más importante entre otros. En México generalmente se emplean los valores de referencia que las casas comerciales ofrecen, una práctica inapropiada, ya que estos valores se obtuvieron en poblaciones diferentes a la nuestra. La población mexicana se compone en gran parte de individuos indígenas y mestizos y de éstos la mayoría tiene herencia española. Es necesario conocer la concentración de los factores que determinan la tendencia hemorrágica o trombótica en nuestra población, ya que el aumento de la concentración del FVIII, por ejemplo, se asocia en jóvenes con infarto agudo de miocardio e infarto cerebral,³³ mientras que la concentración alta de Fg eleva el riesgo de complicaciones en el diabético.³⁴ Los valores de referencia derivados de nuestra población permiten evaluar con más certeza si un factor en un paciente mexicano está elevado o disminuido.

Ya que la diversidad de reactivos y sistemas de medición dificulta la estandarización de valores

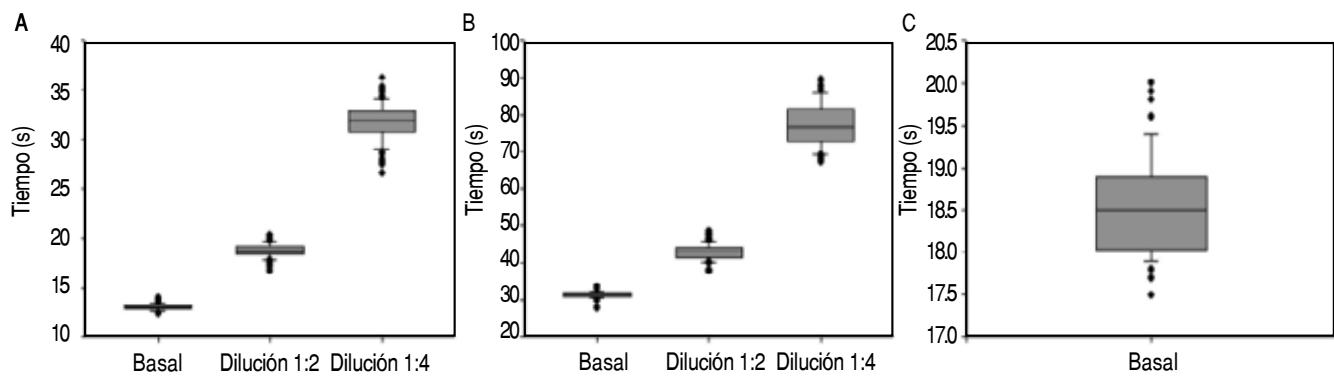


Figura 1. Tiempos de coagulación basales y sus diluciones 1:2 y 1:4. A. TP basal y sus diluciones 1:2 y 1:4. B. TTPa basal y sus diluciones 1:2 y 1:4. C. TT basal. En todos los casos el análisis de varianza mostró diferencias significativas entre los resultados de las pruebas de escrutinio basales con sus respectivas diluciones 1:2 y 1:4. Además, entre los resultados de las diluciones, también se encontraron diferencias significativas.

de referencia para una población determinada, se usó la mezcla de plasmas de una población aparentemente sana para el TP, TTPa, TT y Fg;^{35,36} sin embargo, para las pruebas especiales no hay gran evidencia, por lo que la mayoría de laboratorios en el mundo usa los valores de las casas comerciales. Para establecer los valores de referencia con una mezcla de plasmas se selecciona el mismo número de hombres y mujeres; el número mínimo es 20 aunque 40 o más elevan el nivel de confianza.^{37,38} La mezcla es el parámetro comparativo para establecer un diagnóstico basado en el tiempo de coagulación, ya que asegura una buena actividad de las proteínas involucradas en la formación, regulación y disolución de un coágulo.³⁵⁻³⁸ Ya que la mezcla proporciona un plasma idóneo para estudiar la coagulación, puede utilizarse como parámetro de control de la calidad.

Contrario a lo que se pensaba en México, la distribución del TP, TTPa y TT fue anormal, por lo que el laboratorio clínico no debe usar la media poblacional al informar sus resultados. El TP tuvo una distribución bimodal, un hallazgo interesante porque evalúa la vía extrínseca de la hemostasia en la cual el factor más importante es el VII, que tuvo una distribución normal. Además, ya que puede identificarse un inhibidor hemostático con las diluciones, se establecieron los valores de referencia para estas pruebas. En cuanto al Fg se debe resaltar el uso de una técnica coagulométrica para medirlo directamente; esto es importante ya que no se deben emplear los valores de Fg obtenidos al derivar el resultado del valor del TP. Para los otros factores hemostáticos, los valores de referencia difirieron de los comerciales, un hecho evidente al ver el límite inferior de todos ellos, destacando la concentración “baja” de FXII. Los valores de referencia de las proteínas anti-coagulantes y fibrinolíticas obtenidos difirieron también de los sugeridos por las casas comerciales, pues se comportaron de manera similar a los factores de fase fluida. Finalmente, el tiempo de coagulación para establecer la presencia de RPCA fue de 130 s y no 120 s como lo sugieren los fabricantes de reactivos por lo que quizás exista un número alto de resultados falsos negativos al evaluar esta prueba en México.

Otro hallazgo fue al establecer los valores de referencia de las pruebas para AL. Al igual que con las pruebas de escrutinio, el resultado con la mezcla de plasmas es necesario para confirmar o descartar la presencia de este anticoagulante. Desafortunadamente, incluso con la mezcla de plasmas de donadores sanos, la variabilidad analítica interensayo para el AL fue grande, ya que los rangos de referencia os-

cilaron desde 4 s para la prueba Staclot® DRVV Confirm hasta 16 s para Staclot® LA. Esto sustenta la necesidad de usar más de una prueba para el AL y/o la de pruebas nuevas con menos variabilidad que las actuales.

CONCLUSIÓN

Se demostró que los valores de referencia de la mayoría de los factores del sistema de coagulación son diferentes de los que proponen las casas comerciales. Además, se debe utilizar la mezcla de plasmas para las pruebas de escrutinio y no una media poblacional. Evidentemente, el emplear reactivos de alta calidad permite tener un grado alto de certeza en relación con la calidad de nuestros resultados; sin embargo, ya que existen varias casas que comercializan estos reactivos, este trabajo debe tomarse sólo como evidencia de las diferencias con los valores de referencia que sugieren dichas casas comerciales y de la utilidad de la mezcla de plasmas. Por otra parte, es necesario que otros grupos de trabajo establezcan los valores de referencia para cada una de las marcas comerciales de reactivos disponibles en México y que todos estos valores de referencia obtenidos en la población mexicana se actualicen, quizás, cada cinco años; aunque lo ideal sería que todo laboratorio de coagulación estableciera sus valores de referencia. Es un hecho que basta con que se establezcan una sola vez para cada reactivo comercial considerando, además, que el costo de este tipo de investigación es muy alto.

REFERENCIAS

1. Davie EW, Fujikawa K, Kisiel W. The coagulation cascade: initiation, maintenance, and regulation. *Biochemistry* 1991; 30: 10363-70.
2. Lippi G, Favoloro EJ, Franchini M, Guidi GC. Milestones and perspectives in coagulation and hemostasis. *Semin Thromb Hemost* 2009; 35: 9-22.
3. Bauer KA, Rosenberg RD. The pathophysiology of the pre-thrombotic state in humans. Insights gained from studies using markers of hemostatic system activation. *Blood* 1987; 70: 343-55.
4. Mann KG. Biochemistry and physiology of blood coagulation. *Thromb Haemost* 1999; 82: 165-74.
5. Koreth R, Weinert C, Weisdorf DJ, Key NS. Measurement of bleeding severity: a critical review. *Transfusión* 2004; 44: 605-17.
6. Crowther MA, Kelton JG. Congenital thrombophilic states associated with venous thrombosis: a qualitative overview and proposed classification system. *Ann Intern Med* 2003; 138: 128-34.
7. Kitchens CS. Approach to the bleeding patient. *Hematol Oncol Clin North Am* 1992; 6: 983-9.
8. Bachman F. Diagnostic approach to mild bleeding disorders. *Semin Hematol* 1980;17: 292-305.

9. Plebani M, Sanzari MC, Zardo L. Quality control in coagulation testing. *Semin Thromb Hemost* 2008; 34: 642-6.
10. Bonar R, Favaloro EJ, Adcock DM. Quality in coagulation and haemostasis testing. *Biochem Med* 2010; 20: 184-99.
11. Martínez MC. El problema trombótico. Incidencia. Enfermedad tromboembólica venosa, Guía Práctica. México, D. F.: Editorial Alfil; 2007; 24-8.
12. Mina A, Favaloro EJ, Mohammed S, Koutts J. A laboratory evaluation into the short activated partial thromboplastin time. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2010; 21: 152-7.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). One-stage prothrombin time (PT) test and activated partial thromboplastin time (APTT) test: Approved guideline. 2nd. ed. 2008. Clinical and Laboratory Standards Institute Document H47-A2.
14. Bajaj SP, Joist JH. New insights into how blood clots: implications for the use of APTT and PT as coagulation screening tests and in monitoring of anticoagulant therapy. *Semin Thromb Hemost* 1999; 25: 407-18.
15. Kamal AH, Tefferi, Pruthi RK. How to interpret and pursue an abnormal prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and bleeding time in adults. *Mayo Clin Proc* 2007; 82: 864-73.
16. Healy NJ, Ingram GI. The "normal range" in test of haemostasis. *Thromb Haemost* 1978; 39: 504-9.
17. Poller L, Thomson JM. The interpretation of prothrombin results. A national survey. *Brit J Haemat* 1969; 16: 31-7.
18. Lippi G, Favarolo EJ. Activated partial thromboplastin time: new tricks for an old dogma. *Semin Thromb Hemost* 2008; 34: 604-11.
19. Bolton MP, Perry D. The rare coagulation disorders-review with guidelines for management from UK Haemophilia Centre Doctors Organization. *Haemophilia* 2004; 10: 593-628.
20. Lowe G. Factor IX and thrombosis. *Br J Haematol* 2001; 115: 507-13.
21. Nicolaes GAF, Dahlbäck B. Factor V and thrombotic disease: description of a Janus-Faced protein. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 202; 22: 530-8.
22. Mettine HA, Camire RM. Blood coagulation factors V and VIII: molecular mechanisms of procofactor activation. *JCD* 2010; 2: 19-20.
23. Sansores-García L, Majluf-Cruz A, Vargas-Vorackova F, Labardini-Méndez J. Valores de referencia de la actividad de proteína C en sujetos adultos sanos en México. *Rev Invest Clin* 1994; 46: 231-5.
24. Aich M, Gandrille S, Emmerich J. A review of mutations causing deficiencies of antithrombin, protein C and protein S. *Thromb Haemost* 1995; 74: 81-9.
25. Zavala HC, Hernández ZE, Martínez MC, Arenas SM, González OAE, Reyes ME. Asociación de la RPCA con mutaciones Leiden y Cambridge del factor V de la coagulación en pacientes mexicanos con trombofilia primaria. *Cir Cir* 2010; 78: 131-6.
26. Rijken DC, Lijnen HR. New insights into the molecular mechanisms of the fibrinolytic system. *J Thromb Haemost* 2009; 7: 4-13.
27. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite anti-phospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006; 4: 295-306.
28. Mackie JL, Donohoe S, Machin SJ. Lupus anticoagulant measurement. En: Khamashta MA (ed.). Hughes Syndrome. Anti-phospholipid syndrome. London: Springer; 2000; 214-24.
29. Westgard JO. The need for a system of quality standards for modern quality management. *Scand J Clin Lab Invest* 1999; 59: 483-6.
30. Favaloro EJ, Lippi G. Laboratory reporting of haemostasis assays: The final post-analytical opportunity to reduce errors of clinical diagnosis in hemostasis? *Clin Chem Lab Med* 2010; 48: 309-21.
31. Heuck C, Nageh EL. Quality specifications of clinical laboratory procedures: Developing country needs. *Scand J Clin Lab Invest* 1999; 59: 559-62.
32. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory: Approved guideline. 2nd. Ed. 2000; Clinical and Laboratory Standards Institute Document C28-A2.
33. Majluf-Cruz A, Moreno-Hernández M, Martínez-Esquível N, Ruiz de Chávez-Ochoa AA, Coria-Ramírez E, Monroy-García R, et al. Actividad del FVIII en pacientes mexicanos jóvenes con infarto agudo de miocardio. *Gac Med Mex* 2008; 144: 199-206.
34. Guardado-Mendoza R, Jiménez-Ceja L, Pacheco-Carrasco MF, Aguayo-Godínez A, Molina-Padilla J, Villa-Godínez G, et al. Fibrinogen is associated with silent myocardial ischaemia in type 2 diabetes mellitus. *Acta Cardiologica* 2009; 64: 523-30.
35. van den Besselaar AM, Barrowcliffe TW, Houbouyan-Réveillard LL, Jespersen J, Johnston M, Poller L, et al. Guidelines on preparation, certification, and use of certified plasmas for ISI calibration and INR determination. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 1946-53.
36. D'Angelo A, Galli L, Lang H. Comparison of mean normal prothrombin time with PT of fresh normal pooled plasma or of a lyophilized control plasma (R82A) as denominator to express PT results. *Clinical Chemistry* 1997; 43: 2169-74.
37. NCCLS. Collection, transport and processing of blood specimens for coagulation testing and general performance of coagulation assays: approved guidelines. 2nd. Ed. 1991: H21-A2.
38. Polack B, Schved JF, Boneu B. Preanalytical recommendations of the 'Groupe d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose' (GEHT) for venous blood testing in hemostasis laboratories. *Haemostasis* 2001; 31: 61-8.

Reimpresos:

Abraham Majluf-Cruz

Unidad de Investigación Médica en Trombosis,
Hemostasia y Aterogénesis
Instituto Mexicano del Seguro Social
Apartado Postal 12-1100,
México, D.F.
Tel.: 0155 5574-5626
Fax: 0155 5574-5618
Correo electrónico: amajlufc@gmail.com

Recibido el 30 de enero 2012.
Aceptado el 29 de junio 2012.