

27  
2ej



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
ZARAGOZA**

**CALIBRACION (OBTENCION DEL ISI) Y EVALUACION  
CLINICA DE UNA TROMBOPLASTINA TISULAR  
LIQUIDA, DE CEREBRO DE CONEJO, POR  
COMPARACION CON UNA PREPARACION  
INTERNACIONAL DE REFERENCIA**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:**

**QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO**

**P R E S E N T A**

**HUGO LEYNEZ CELISEO**



**MEXICO  
1990**





Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

	pág.
INTRODUCCION.....	1
CAPITULO I. GENERALIDADES .....	3
I.1. Hemostasia .....	3
I.1.1 Mecanismo Hemostático .....	3
I.2 Anticoagulantes .....	9
I.2.1 Factores vitamina K dependientes. ....	9
I.2.2 Interacción con drogas .....	11
I.2.3 Dosis terapéutica .....	11
I.3 Estandarización de tromboplastinas .....	13
I.3.1 Definiciones .....	13
I.3.2 Reseña Histórica .....	14
I.3.3 Tromboplastinas de referencia ..	
internacional .....	17
I.3.4 Desgloce estadístico .....	19
I.3.5 Inspección de tromboplastinas ...	21
I.4 Rangos terapéuticos óptimos en términos	
de RIN .....	24
I.4.1 Desordenes trombóticos .....	24
I.4.2 Tablas de rangos terapéuticos ...	26
I.4.3 Desordenes hepáticos .....	29
 CAPITULO II. ....	 30
II.1 Fundamentación del tema .....	30
II.2 Planteamiento del problema .....	31
II.3 Objetivos .....	32
II.4 Hipótesis .....	33
 CAPITULO III. PARTE EXPERIMENTAL .....	 34
III.1 Recursos .....	34
III.1.1 Material .....	35
III.1.2 Material biológico .....	35
III.1.3 Reactivos .....	35
III.1.4 Equipo .....	35
III.2 Métodos .....	37

III.2.1	Obtención de tromboplastina tisular .....	38
III.2.2	Selección de plasmas .....	39
III.2.3	Realización de tiempos de protrombina .....	40
III.2.4	Trazado de la curva de referencia .....	41
III.2.5	Calibración de tromboplastinas .	42
III.2.6	Formas de reportar el TP .....	45
III.2.7	Interpretación de la prueba de TP .....	46
III.2.8	Comparación clínica .....	46
CAPITULO IV. RESULTADOS .....		49
IV.1	Selección de la tromboplastina a calibrar .....	49
IV.2	Calibración de tromboplastina .....	59
IV.2.1	Primera calibración .....	59
IV.2.2	Segunda calibración .....	64
IV.2.3	Resultado global de la calibración .....	69
IV.3	Comparación clínica .....	70
CAPITULO V. ANALISIS DE RESULTADOS .....		75
CAPITULO VI. CONCLUSIONES .....		80
REFERENCIAS .....		82
APENDICE .....		87

## INTRODUCCION

Actualmente a muchos pacientes se les administra anticoagulantes orales en el tratamiento y profilaxis de trastornos tromboticos. El monitoreo de pacientes anticoagulados se hace con base en el tiempo de protrombina. Esta prueba requiere de extractos tisulares, llamadas tromboplastinas. Las fuentes tisulares son comunmente de cerebro y pulmón de conejo, cerebro y placenta humana, y cerebro bovino. Al proceder las tromboplastinas de diferentes fuentes, su sensibilidad varía y los tiempos de protrombina también. Por lo que se necesita la realización de una escala común, en la que se pudiera reportar el tiempo de protrombina, basado en un sistema de referencia. Este sistema fue recomendado recientemente por el Comité Internacional de Trombosis y Hemostasia (ICTH) y el Comité Internacional para Estandarización en Hematología (ICSH).

El sistema fue adoptado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1983 (37,39).

Los materiales de referencia propuestos son extractos tisulares, liofilizados, de cerebro; la BCT/099 de humano, la OBT/79 de bovino y la RBT/79 de conejo, los cuales son preparaciones secundarias de referencia, pues son calibradas frente a una preparación de referencia primaria la 67/40 (combinada) o la BCT/253 (simple), ambas de cerebro humano, que poseen un ISI de 1.0 por definición. Se habla de materiales de referencia terciarios cuando estos son calibrados ante una referencia secundaria, las cuales son tromboplastinas comerciales. Por lo tanto se pueden calibrar lotes producidos localmente frente a una tromboplastina comercial (con ISI conocido), llamándose a esto una comparación indirecta (49).

El método adoptado para la calibración fue el propuesto por Biggs y Denson, el cual utiliza 20 plasmas normales y 60 plasmas anticoagulados, evaluados en 10 días diferentes de trabajo.

Los tiempos de protrombina obtenidos se convierten en los logaritmos y utilizando como herramienta estadística la regresión ortogonal. Se obtiene el Índice de Sensibilidad Interna-

cional (ISI), que es el parámetro de calibración.

Una vez obtenido el ISI, el tiempo de protrombina de pacientes anticoagulados se reporta en una escala común que es el Radio Internacional Normalizado RIN.

$$RIN = RP^{ISI}$$

donde RP = Radio de Protrombina

La cual es una medida universal, para un mejor control de estos pacientes.

En el presente trabajo no fue posible hacer la comparación de las tromboplastinas producidas localmente frente a -- una Preparación Internacional de Referencia (PIR) secundaria, por su alto costo y por que tenía que mandarse pedir a un -- país Europeo, haciéndose la calibración indirecta con Preparaciones de Referencia de Trabajo (PRT) terciarias (que son -- tromboplastinas comerciales).

El presente trabajo contiene los resultados de:

- a) La obtención de 6 lotes de tromboplastina ( $Z_1 - Z_6$ ) -- con diferente sensibilidad, con base en el porcentaje de actividad.
- b) La calibración indirecta de los lotes  $Z_2$  y  $Z_6$  frente a PRT terciarias.

Thromborel S

Simplastin Excel

Simplastin Excel S

- c) Comparación clínica de la tromboplastina producida localmente y la comercial, en padecimientos donde administran anticoagulantes orales (Valvulopatías y Tromboflebitis) y en los que no se administran (Cirrosis Hepática Alcohólica Nutricional (CHAN) e Ictericia -- Obstructiva) pero que tienen un Tiempo de Protrombina (TP) alargado.

## I. GENERALIDADES

### I.1 Hemostasia

La hemostasia es un sistema de defensa del organismo, - cuya principal función es prevenir la salida de sangre del interior de los vasos y detener la hemorragia si se produce una solución de continuidad de los mismos; mantener la integridad de la pared vascular y restablecer la circulación de la sangre cuando se ha obstruido un vaso.

La regulación de este mecanismo involucra un complejo - de interacciones entre vasos sanguíneos, elementos celulares sanguíneos y una variedad de proteínas plasmáticas (1,2).

#### I.1.1

##### Mecanismo hemostático

Se puede clasificar para su estudio en: A) Vasoconstricción local o componente vascular; B) Hemostasia primario o formación de trombo plaquetario; C) Fase de coagulación; -- D) Estabilización de fibrina y E) Fibrinólisis o disolución del coágulo de fibrina (1,6).

#### A. Vaso constricción local (componente vascular).

Cuando se produce una incisión en la piel, la pérdida de sangre es mínima durante los primeros segundos aumentando después progresivamente. Esto obedece a que se produce una vasoconstricción rápida, seguida de una relajación.

La vasoconstricción es provocada por la estimulación -- directa de los nervios presentes en la pared o por estímulo químico, provocado por la salida del interior de las plaquetas de sustancias vasoactivas, como la serotonina, y por -- la síntesis de prostaglandinas en la plaqueta, como el tromboxano A<sub>2</sub> fuertemente vasoconstrictor. Paralelamente a esto, en el endotelio vascular se sintetiza una prostaglandina, la prostaciclina (PGI<sub>2</sub>), que es fuertemente vasodilatador.

## B. Hemostasia primaria (formación de trombo plaquetario).

La hemostasia primaria comprende una serie de fenómenos que culminan con la formación de agregados plaquetarios o -- tromboplaquetario.

El endotelio lesionado expone tejido conectivo subendotelial (colágeno), al cual las plaquetas se adhieren por la presencia del factor de Von Willebrand.

El Difosfato de Adenosina (ADP) es liberado por los gránulos densos de las plaquetas y se inicia la adherencia de -- las plaquetas unas con otras, que es, la agregación que forma un agregado inestable. Los fosfolípidos de la membrana -- plaquetaria forman ácido araquidónico, de donde el Tromboxano A<sub>2</sub> (T-A<sub>2</sub>) es sintetizado. Este T-A<sub>2</sub> promueve la agrega---ción y la vasoconstricción ya mencionada. Las primeras trazas de agentes inductores (trombina, tripsina, virus, bacterias, zimosan, látex, etc.), estimulan a las plaquetas a sufrir -- cambios morfológicos provocando la conversión de un tapón -- inestable primario a un tapón estable, sobre el cual la fi--brina se depositará. Paralelamente a la formación del tapón--hemostático, las plaquetas proveen de un activados procoagulante llamado factor -3- plaquetario (FP3) (1,2).

Todo lo anterior se puede clasificar en los siguientes--puntos:

- a) Adhesión a la pared celular.
- b) Cambio de forma y contracción de la plaqueta.
- c) Reacción de liberación o secreción del contenido de-- los gránulos.
- d) Agregación de las plaquetas o formación del trombo -- plaquetario.

## C. Fase de coagulación.

El proceso de coagulación de la sangre tiene como obje--tivo final la formación de fibrina, un complejo insoluble a--partir de fibrinógeno, que es una proteína soluble. Esto so--lo puede ser realizado por una enzima altamente específica -- como es la trombina que puede ser generada de su forma inac--tiva, protrombina, por una serie de reacciones entre enzimas

proteolíticas (serina proteasa), cofactores y fracciones lipídicas. Constituyendo una reacción concatenada (cascada de la coagulación) que conlleva a la formación de un coágulo estable.

Los factores de la coagulación pueden ser agrupados en:

- Factores vitamina K dependientes.
- Factores sensibles a la trombina.
- Factores del sistema de contacto.

En la Tabla No. 1 se muestran sus características.

Dentro de la fase de la coagulación se distinguen dos vías en la generación de trombina, que es la vía intrínseca y la vía extrínseca. Como se observa en la Figura No. 1 hay una gran interacción entre ellas.

Se distinguen 4 fases en el sistema de la coagulación:

- Fase de contacto.
- Fase de activación del factor X.
- Fase de formación de trombina.
- Fase de formación de fibrina.

#### 1. Vía intrínseca de la coagulación.

El sistema intrínseco es llamado así porque la sangre contiene todos los elementos necesarios para la coagulación. Los factores de contacto (XII, precalicreina (PK), quinínógeno de alto peso molecular (HMWK), y XI) son activados por exposición a cargas negativas (superficie de vidrio, cristales de ácido úrico, piel, colágeno y complejos antígeno-anticuerpo).

El factor XIIa en la presencia de precalicreina y quinínógeno de alto peso molecular activa el factor XI. El factor XIa activa IX, que formando un complejo con el VIII, lípidos (PF3) forman una "Protombinasa" que genera trombina. Figura-No.1

#### 2. Vía extrínseca de la coagulación.

Este sistema es activado por un factor tisular (tromboplastina completa) liberado por células lesionadas. El factor tisular (FT), junto con el factor VII activado (VIIa) y

calcio, activan el factor X. El factor X activado (Xa) se --  
compleja con factor V y el factor tisular (FT) para formar --  
la "Protrombinasa" que transforma la protrombina en trombi-  
na. Una vez activado el factor X, la cascada de la coagula--  
ción sigue una ruta común para ambas vías de la activación --  
de la protrombina (2).

#### D. Estabilización de fibrina.

Cuando la trombina actúa en las moléculas de fibrinóge-  
no, se generan fibrinopéptidos (A y B) que son monómeros ac-  
tivos de fibrina.

El factor XIIIa, una transaminasa, polimeriza los monó-  
meros de fibrina transformando la fibrina soluble en fibrina  
insoluble, que da un coágulo estable (2).

#### E. Fibrinólisis.

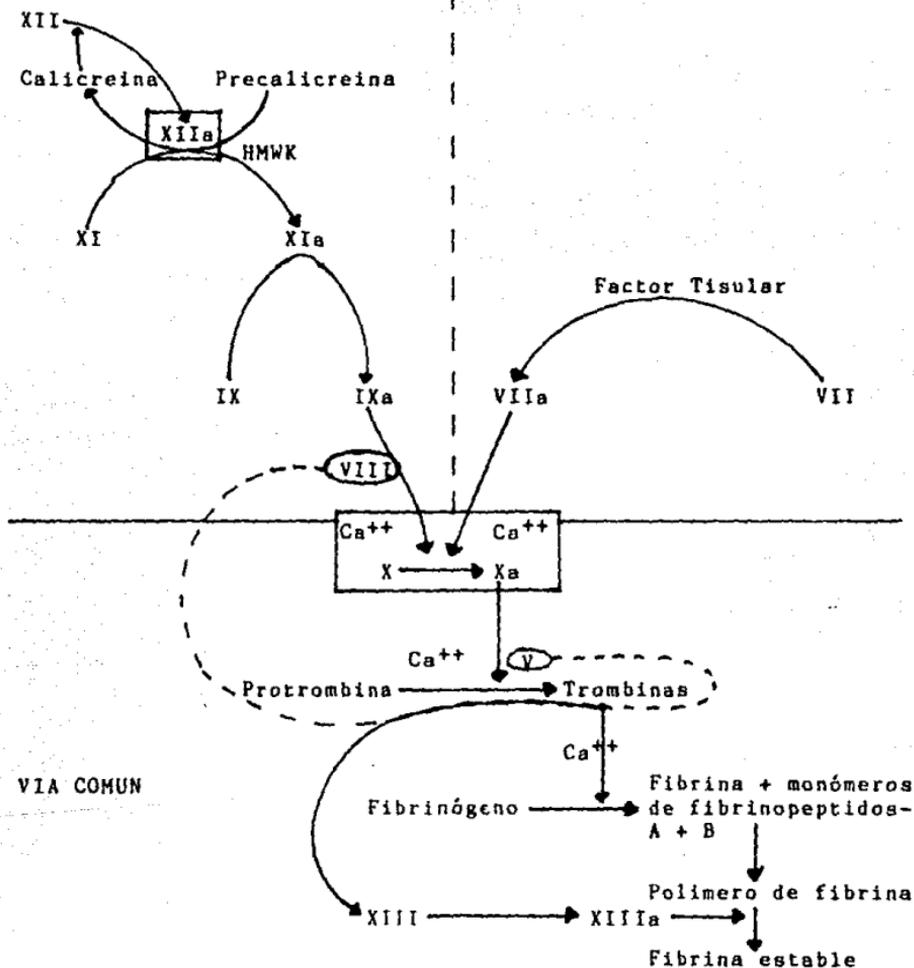
La fibrinólisis (y trombólisis) es el proceso por el --  
que la fibrina (en forma de coágulo o trombo) es enzimática-  
mente degradada a productos de degradación de la fibrina --  
(PDF) solubles (fragmentos X, Y, D y E). La enzima proteolí-  
tica es la plasmina (proviene del plasminógeno) que puede --  
ser activado por el factor XIIIa plasmático (vía intrínseca)-  
o por activadores tisulares (vía extrínseca) (5,22).

FACTOR	SINONIMO	FORMA ACTIVA	VIDA MEDIA (HORAS)	PESO MOLECULAR (DALTONS)	CONCENTRACION PLASMATICA (ug/dl)	CLASIFICACION
I	Fibrinogeno	Fibrina (estructura de coágulo)	120	340,000	1500-4000	Sensible a <u>trombina</u>
II	Protrombina	Serina proteasa	100	75,500	150	Vitamina K <u>de-</u> <u>pendiente</u>
III	Factor Tisular (Trombo- plastina)	—	—	—	—	—
IV	Calcio	—	—	—	—	—
V	Procclerina	Cofactor	25	330,000	10	Sensible a <u>trom-</u> <u>bina</u>
VI	No usado	—	—	—	—	—
VII	Proconvertina	Serina proteasa	5	48,000	1	Vitamina K <u>de-</u> <u>pendiente</u>
VIII:C	Factor antihemofílico	Cofactor	10	1,000,000	0.05	Sensible a <u>trom-</u> <u>bina</u>
VIII:R	Factor Willebrand	Cofactor	30	—	—	—
IX	Factor Christmas, compo- nente tromboplastínico - plasmático	Serina proteasa	20	57,000	5	Vitamina K <u>de-</u> <u>pendiente</u>
X	Factor Stuart	Serina proteasa	65	59,000	8	Vitamina K <u>de-</u> <u>pendiente</u>
XI	Antecedente tromboplasti- nico del plasma (PTA)	Serina proteasa	65	160,000	5	Factor de con- tacto
XII	Factor Hageman	Serina proteasa	60	76,000	35	Factor de con- tacto
XIII	Factor estabilizador de fibrina	Transglutaminasa	150	320,000	20	Sensible a <u>trom-</u> <u>bina</u>
Plasminogeno	—	Plasmina (forma activa)	48	90,000	150,000	—
PK	Factor Fletcher Precalicerina	Serina proteasa	—	85,000	30	Factor de con- tacto
PKK	Factor Fitzgerald Quintogeno de alto pe- so molecular	Serina proteasa	—	150,000	80	Factor de con- tacto

Tabla No. 1 Características de factores de la coagulación (1,2,9,10).

ACTIVACION INTRINSECA

ACTIVACION EXTRINSECA



= Cofactores

HMWK = Quininógeno de alto peso molecular

PF3 = Factor -3- plaquetario

Figura No. 1 Vías de coagulación

## I.2 Anticoagulantes

Son fármacos y sustancias químicas que por uno o varios mecanismos tienen la capacidad de bloquear el mecanismo de la hemostasia o retardarlo, inhibiendo la formación de fibrina, se pueden clasificar en:

### A) Anticoagulantes que actúan "in vitro".

Estos anticoagulantes fijan el ión calcio, formando un precipitado o complejo, eliminándolo por lo tanto de la sangre (descalcificación) como el Citrato de Sodio y Oxalato de Sodio, Resinas de Intercambio Iónico (amberlita IR100), EDTA (disódico), Acido Citrato de Extrosa (ACD) y Fosfato de Extrosa (CPD). También se evita la coagulación de la sangre desfi-brinándola con pedazos de vidrio cortado.

### B) Anticoagulantes que actúan "in vivo".

#### a) Anticoagulantes directos.

Se les llama así a los inhibidores que normalmente se encuentran presentes en el plasma como la -antitrombina III, productos de degradación de la-fibrina, proteína C y S, llamándolos antitrombinicos pues evitan la formación de trombina, además de inhibir otros factores.

#### b) Anticoagulantes indirectos (orales)

Estos anticoagulantes (cumarinas y derivados de -la indanediona) interfieren en la síntesis hepática de los factores II, VII, IX y X, llamándolos -por lo tanto hipoprotrombinémicos pues retardan -la formación de trombina. También interfieren en la síntesis de anticoagulantes naturales como la-proteína C y S (1,2).

### I.2.1

#### Factores vitamina K dependientes

El principal efecto farmacológico de los anticoagulantes orales es la inhibición de la coagulación sanguínea por-interferencia con la síntesis hepática postranslacional de -

los factores coagulantes dependientes de la vitamina K (II, VII, IX y X). Esta modificación convierte a los factores en estructuras inertes, aunque se mantenga la misma concentración de ellos en el plasma.

El paso sensible de la vitamina K en la síntesis de los factores de coagulación es la carboxilación posribosomal de diez o más restos de ácido glutámico en el extremo aminoterminal de la proteína precursora, para formar un aminoácido único, el gammacarboxilglutamato. Estas fracciones terminales de los aminoácidos quelan calcio, lo cual es necesario para la unión de los cuatro factores de coagulación dependientes de la vitamina K a los fosfolípidos.

Cuando la vitamina K está ausente en los hepatocitos, éstos sintetizan moléculas inertes que colectivamente se les llama PIVKA (Proteínas inducidas por la ausencia de vitamina K o antagonistas).

Los anticoagulantes del tipo de la cumarina interfieren en el ciclo, pues evitan la reducción del epóxido de vitamina K, como se observa en la figura No. 2 (7,12).

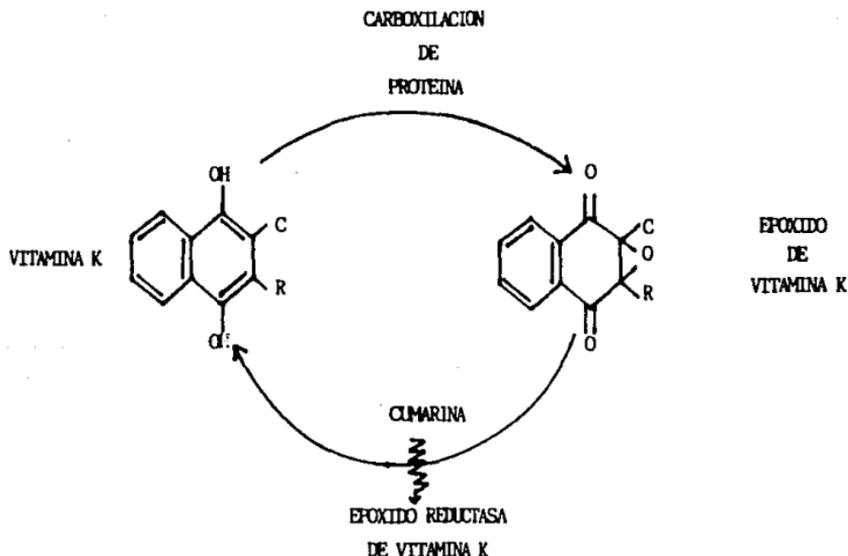


Figura No. 2 Ciclo de oxidación de la vitamina K con la siguiente carboxilación de residuos glutámico de proteínas.

### I.2.2

#### Interacción con drogas

El tratamiento crónico con anticoagulantes orales es -- frecuentemente asociado con pacientes que también toman -- otras drogas por enfermedades serias. Las interacciones de - drogas con anticoagulantes orales son muy comunes, y la faci- lidad de la hemorragia las hace evidentes y con frecuencia - ominosas.

Las drogas de uso más común que interactúan con los an- ticoagulantes orales son los barbitúricos, los salicilatos, - la fenilbutazona, antibióticos orales, sulfamidas, etc. es- - tos agentes potencializan el efecto de los anticoagulantes - pues algunos de ellos desplazan a la warfarina de la albumi- na, proteína de transporte, en el plasma aumentando la con- - centración del anticoagulante, por lo que se hace más dispo- nible para la inhibición de la vitamina K a nivel hepático. - (7,9).

### I.2.3

#### Dosis terapéutica

La hemorragia es el principal efecto indeseable causado por el tratamiento con anticoagulantes orales. La terapéuti- ca anticoagulante debe siempre vigilarse determinando el TP- y el paciente debe observarse cuidadosamente para detectar - la hemorragia que se produce a menudo, incluso cuando el TP- este dentro de los límites terapéuticos esperados. En orden- de frecuencia decreciente, las complicaciones incluyen equi- mosis, hematuria, hemorragia uterina, melena o hematoquezia, epistaxis, hematoma, hemorragia gingival.

Se recomienda que el tratamiento se inicie sin una gran dosis de carga, para reducir el peligro de hemorragia con -- los enfermos que pueden ser particularmente sensibles a la - droga y después se determina una dosis diaria con base en el valor de TP. En la tabla No. 2 se recomiendan dosis de los- diferentes anticoagulantes (7,8).

ANTICOAGULANTE	DOSES INICIAL DIARIA	DOSES DE MANTENIMIENTO	PRESENTACION FARMACEUTICA
Warfarina	10-15 mg	2-15 mg	Tabletas
Dicumarol	200-300 mg	25-200 mg	Tabletas
Frenprocumon	21-9 mg	0.5-6 mg	Tabletas

Tabla No. 2 Dosis recomendadas de anticoagulantes

El control de la terapéutica con anticoagulantes orales se realiza con el TP en términos de RIN, como se explica más adelante.

### I.3 Estandarización de tromboplastinas

#### I.3.1

##### Definiciones

Tromboplastina: Extracto tisular que tiene la propiedad de acelerar la activación de la coagulación sanguínea por -- vía extrínseca, soslayando así algunas reacciones de la vía intrínseca. Las tromboplastinas preparadas con tejidos de ma míferos contienen proteínas y fosfolípidos. Existen dos tipos de tromboplastina, la simple y la combinada.

También se pueden clasificar las tromboplastinas por ti pos según el origen del tejido que proceden de cerebro y pul món de conejo, cerebro y placenta humana, y cerebro bovino - (13,14).

Tromboplastina simple: Suspensión de tejido cerebral en suero salino.

Tromboplastina combinada: Suspensión de tejido cerebral en suero salino, o solución amortiguadora, con una concentra ción apropiada de fibrinógeno bovino, factor V y cloruro cal cico añadidos.

Tiempo de protrombina: Tiempo de coagulación de una -- muestra de plasma en presencia de una preparación de trombo- plastina y de la cantidad apropiada de iones de calcio.

##### Índice de sensibilidad internacional (ISI)

Para una tromboplastina dada sería:

- A) La pendiente de la línea de calibración obtenida en un gráfico logarítmico doble que representará los -- tiempos de protrombina para la preparación interna- cional de referencia de tromboplastina humana combi- nada (clave: 67/40) en el eje vertical y los tiempos de protrombina para la tromboplastina dada en el eje horizontal.
- B) El producto de a) la pendiente de la línea de cali- bración obtenida en un gráfico logarítmico doble que representará los tiempos de protrombina, para cual- - quier preparación de tromboplastina, cuyo (ISI) hu- - biera sido determinado por regresión ortogonal, en -

el eje vertical y los tiempos de protrombina para la tromboplastina dada en el eje horizontal y b) el -- (ISI) previamente determinado para la primera de las preparaciones (14,15,16,39).

Anticoagulación adecuada: Se define como la ayuda de -- drogas que inducen hipocoagulabilidad evitando la trombosis -- y si el trombo se ha formado éste se detiene y destruye. La intensidad de anticoagulación es limitada, pues provoca frecuentemente sangrados (17,18,19).

### I.3.2

#### Reseña histórica

En 1935 Armand Quick describe una prueba que llama tiempo de protrombina, que la profesión médica la adopto como -- tal. Esta prueba fue sufriendo cambios paulatinos, ya que en un inicio se comenzó a trabajar con un solo tipo de trombo-- plastina (de cerebro humano) pero que con el paso del tiempo se produjeran otras tromboplastinas de diferente origen (de cerebro y pulmón de conejo, cerebro y placenta humana, y cerebro bovino) que algunas eran simples y otras combinadas. -- Estas tromboplastinas daban resultados muy diferentes, entre sí, dado a que cada tromboplastina tiene una sensibilidad di -- ferente, puesto que había centros que manejaban la misma --- tromboplastina pero ocupaban volúmenes diferentes y sumando -- a ésto la diferencia de tiempos de incubación tanto de la -- tromboplastina como del plasma, condujo a un reporte no homo -- géneo de los resultados (20,22-26).

Inicialmente se reportaba el TP en segundos y en porcen -- taje de actividad, basándose en la curva de dilución del -- plasma con solución salina.

Todo lo anterior contribuía a un mal control de la anti -- coagulación de pacientes, pues cada centro en comparación -- con otro, daba resultados completamente diferentes (15,26--- 28).

Fue hasta 1976 cuando Biggs y Denson, dos expertos de -- la comunidad internacional de trombosis y hemóstasis (ICTH) -- demostraron irrefutablemente que la estandarización de Quick

no daba resultados comparables. Ellos establecieron que tenían que manejar un método de referencia único para el tiempo de protrombina y que se debería de utilizar una o más tromboplastinas de referencia, además de que se tenía que desarrollar un reporte clínico homogéneo (29-34).

Uno de los primeros intentos de estandarización se realizó tratando de utilizar un sólo tipo de plasma que tenía que ser preparado por un solo centro, y preparar plasma adsorbido, plasma normal y plasma anormal, y distribuirlos a todo el mundo. Lo cual no fue posible pues no se daban abasto y los resultados además no eran comparables (36,37,47).

En 1973 Bagham y Biggs utilizan como preparación internacional de referencia la tromboplastina de cerebro humano combinada (67/40) con un (ISI) de 2 por definición, distribuyéndola a 3 centros, los cuales las compararon con tromboplastinas de cerebro de conejo, cerebro bovino y humano, utilizando para la estandarización plasmas normales y anticoagulados. De lo anterior se obtiene una mejor comparación de las tromboplastinas, pero el error estuvo en que las líneas de comparación eran trazadas a cálculo visual, además de que no se manejaban diferentes grados de anticoagulación (21,23,33,38).

Al mismo tiempo en otro centro se dedujo que no hay problema de la estandarización si se utiliza en todo el mundo el mismo aparato de medición, el mismo reactivo de tromboplastina y el mismo tipo de plasma, además de que la tromboplastina de cerebro humano no se debe de utilizar pues es ilegal, todo lo anterior fue prácticamente imposible (27, 29).

Posteriormente a finales de 1973 se le asignó a la preparación internacional de referencia (PIR) 67/40 un ISI de 1 por definición. De aquí en adelante las comparaciones se tendrían que hacer con base en esta tromboplastina. De esto se deduce que hay un comportamiento lineal entre las tromboplastinas denotándola por la relación  $Y = a + bx$ .

En Inglaterra adoptaron la tromboplastina de bovino combinada (BCT/225) como PIR, pues posee un (ISI) de 1 en -

comparación con la PIR (67/40). Utilizando la PIR (BCT/225)- y la fórmula  $Y = a + bx$  cambian los datos obtenidos por tromboplastinas de cerebro de conejo y cerebro humano en términos de la tromboplastina de bovino combinada (BCT/225) (13, 20, 27, 33).

- a) T H      (TP de tromboplastina humana)  
       ↓  
       T H B    (TP de tromboplastina humano-bovino)
- b) T C      (TP de tromboplastina de conejo)  
       ↓  
       T C B    (TP de tromboplastina conejo-bovino)

De esta forma intentan una mejor correlación de datos. Además deducen que es un error reportar el TP en porcentaje de actividad pues cada tromboplastina tiene diferente sensibilidad, además de que la curva de referencia esta sujeta a muchos factores que afectan los resultados, y que la forma adecuada de reportar el TP es en radio de protrombina ---- (34-37).

Se encontró que hay una buena correlación entre la PIR-BCT/225 con la tromboplastina humana que con la de conejo, - concluyendo por lo tanto que son más sensibles las trombo---plastinas de bovino y humano que la tromboplastina de conejo (32).

Tomando en cuenta todas las experiencias anteriores, -- los diferentes centros de estandarización comienzan a utilizar preparaciones internacionales de referencia, plasmas normales frescos y plasmas anticoagulados frescos en un rango - de radio de protrombina de 1.8 a 3.8, además de un mejor control de las variables que pudieran influir (29, 37, 39).

En 1973 Biggs establece la estandarización de trombo---plastinas utilizando 4 plasmas normales y 26 anormales. En - 1975 modifican nuevamente el método utilizando 20 plasmas -- normales y 60 plasmas anormales. De 1983 a la fecha el método recomendado es utilizar 20 plasmas normales y 60 anorma--

les repartidos en 10 diferentes días de trabajo o utilizar - pool de plasmas normales y anormales congelados, con las indicaciones que se marcan en la sección III.2.2.

Todo lo anterior fue recopilado y analizado por el Comité Internacional de Trombosis y Hemostasia (ICTH), por el Comité Internacional de Estandarización de Hematología (ICEH), por la Comunidad Boreau de Referencia (BCR) y adoptado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1983 (39,43).

### I.3.3

#### Tromboplastinas de referencia internacional

Todas las tromboplastinas utilizadas deben de ser calibradas frente a preparaciones internacionales de referencia. Existen preparaciones primarias y secundarias de referencia, ambas permiten la comparación entre tromboplastinas, ya que la primaria esta muy limitada en cuanto a su distribución -- (29,44).

Por contribución de la ICSH, ICTH y BCR en la tabla No. 3 se designan características de las preparaciones primarias y secundarias.

En 1984 se establece una nueva PIR primaria la BCT/253- que es de cerebro humano simple. Las preparaciones OBT/79, - BCT/099 y RBT/79 estan a disposición de la BCR y la RBT/79 y OBT/79 pasan a ser también preparaciones de referencia de la Organización Mundial de la Salud (OMS), lo anterior se ejemplifica en la Figura No. 3 (44).

La calibración de tromboplastinas es más precisa cuando las comparaciones son hechas entre preparaciones similares, - en especie, por lo que la OMS propuso preparaciones de humano, conejo y bovino (13,14).

	Código de referencia			BCR BCT/099	CBT/79	RBT/79
	WHD 67/40	68/434	70/178			
Tipo de tejido cerebral	humano	bovino	conejo	humano	bovino	conejo
Simple o combinada <sup>1</sup>	Combinada	combinada	simple	simple	combinada	simple
Viales o ampulas	ampolleta vidrio sellado	ampolleta vidrio sellado	ampolleta vidrio sellado	frasco de hule con tapon	ampolleta vidrio sellado	ampolleta vidrio sellado
Masa inicial o volumen (±sd)	2.051± 0.025g	2.2± 0.01g	1.029± 0.01g	1.45± 0.03g	2.11± 0.005g	0.5± 0.02ml
Fase gaseosa	nitrogeno	vacio	nitrogeno	vacio	vacio	nitrogeno (86.7KPa)
Fración masa de — agua después de la — liofilización (Kg,Kg)	0.0064	0.021	0.0069	0.02	0.016	0.01
Para ser reconstitui- do con	2.0 ml CaCl <sub>2</sub> (3.2mmol/l)	2.2 ml CaCl <sub>2</sub> (3.2mmol/l)	1.0 ml agua destilada	1.0 ml agua + fenol (0.5g/l)	2.2 ml CaCl <sub>2</sub> (3.2mmol/l)	0.5 ml agua destilada
PH				6.5	7.73	6.8
Hemoglobina				L.B.D. <sup>2</sup>	L.B.D. <sup>2</sup>	L.B.D. <sup>2</sup>

1) También contiene fibrinógeno y factor V de coagulación

2) Límite bajo de detección

Tabla No. 3 Características de las tromboplastinas de referencia (37).

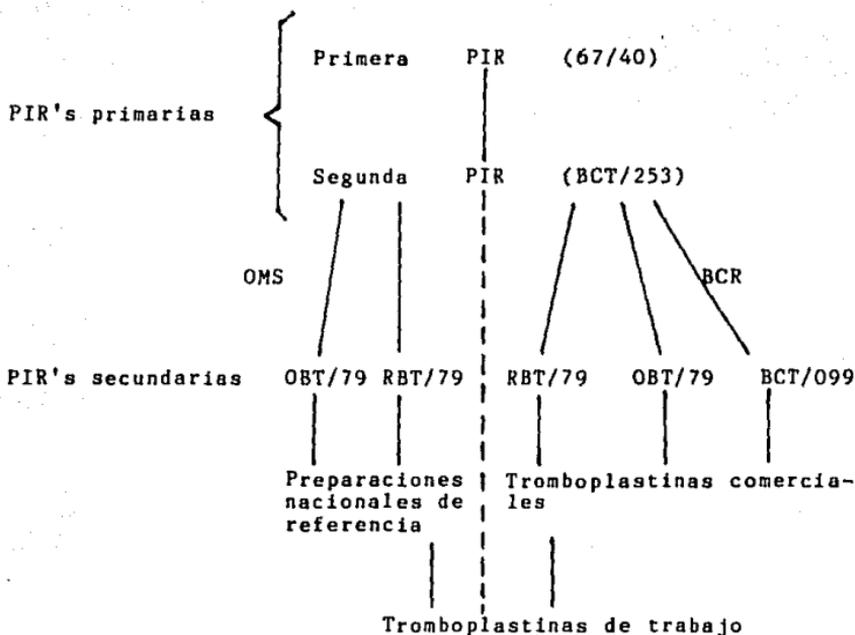


Figura No. 3 Preparaciones Internacionales de referencia -- primarias y secundarias propuestas por la OMS- y BCR.

#### I.3.4

##### Desgloce estadístico

Como ya se dijo anteriormente cada tromboplastina de -- trabajo, es una preparación que debe tener un Índice de Sensibilidad Internacional (ISI), por comparación con una PIR - primaria o secundaria, con un ISI asignado.

Para la obtención del ISI inicialmente se relacionaban los logaritmos de TP, de ambas tromboplastinas, en una gráfica, resultando casi una línea recta, utilizando la ecuación de la recta.

$$Y = a + bx \quad (1)$$

donde a es la ordenada al origen y b es la pendiente, X y Y denotan los logaritmos de los TP, graficando en el eje y la-

preparación de referencia y en el eje X la preparación de -- trabajo. Pero esta ecuación no definía bien la relación entre ambas tromboplastinas (37,43).

La ecuación 1 se utilizaba tanto para plasmas normales, como anormales y se transformaba el dato de TP de una tromboplastina de trabajo en una de referencia, usando de la ecuación 1 la pendiente (b), por lo que la ecuación para el plasma normal y anormal siempre y cuando se utilicen radios de protrombina

$$RP_{67/40} = RP_{MR}^b \quad (II)$$

- donde  $RP_{67/40}$  = Es el radio de protrombina de la PIR 67/40  
 $RP_{MR}$  = Es el radio de protrombina para otro material de referencia  
**b** = La pendiente de la línea de calibración de 1

Los radios convertidos a la escala de PIR 67/40 son denominados Radio de Normalización Internacional (RIN) y la -- pendiente es llamada el Índice de Sensibilidad Internacional (ISI) (42).

El problema que se presentaba era como estimar los parámetros a y b de la ecuación de calibración 1. Por experiencia se sabe que en la regresión ordinaria, la suma de cuadrados de las desviaciones son de manera perpendicular a la línea, ocasionando desviaciones mínimas de los valores, lo --- cual se considera un error calcular a y b. Pero en la regresión ordinaria, estimadores de precisión y pruebas de linealidad que podían ser derivadas. Otra ventaja que se observaba era que dicho método suprimía de manera implícita, el --- error estadístico en ambos ejes. Por lo tanto los estimadores a y b eran calculados así:

$$b = m + (m^2 + 1)^{1/2} \quad (III)$$

$$m = \frac{(y-\bar{y})^2 - (x-\bar{x})^2}{2(x-\bar{x})(y-\bar{y})} = \left| \frac{1}{2r} \cdot \frac{\sum y}{\sum x} - \frac{\sum x}{\sum y} \right| \quad (IV)$$

$$a = y - bx \quad (V)$$

donde: r = Coeficiente de correlación

Sx y Sy = Desviación estandar de x y y

$\bar{y}$  y  $\bar{x}$  = Son las medidas de x y y

Las tromboplastinas de referencia tienen valores de ISI asignados, para la PIR 67/40 su ISI por definición es de 1,- por lo que para obtener el ISI de la tromboplastina de referencia (o de trabajo) es:

$$ISI_{MR} = C_{MR} \cdot ISI_{67/40}$$

donde:  $C_{MR}$  = Pendiente de calibración obtenido de la ecuación III. ( $C_{MR} = b$ )

$ISI_{64/40}$  = ISI asignado a la preparación de referencia

Por lo tanto la ecuación II se transforma en:

$$RIN = RP^{ISI}$$

ó

$$RIN = \text{antilog} (ISI \log RP)$$

Para una obtención de resultados más precisos, en lugar de utilizar una media aritmética ordinaria en el RP.

$$TP_N = (t_1 + t_2 + \dots + t_n)/n$$

Se utiliza una media geométrica

$$TP_N = \text{antilog} (\log_1 + \log_2 + \dots + \log_n)/n$$

ya que

aritmética  $>$  geométrica

Para la obtención del Radio de Protrombina

$$RP = \frac{TP \text{ paciente}}{TP \text{ normal}}$$

### I.3.5

#### Inspección de las tromboplastinas

Cada lote de Tromboplastina de cualquier origen deberá satisfacer los criterios siguientes:

$$a = y - bx$$

(V)

donde: r = Coeficiente de correlación

Sx y Sy = Desviación estandar de x y y

$\bar{y}$  y  $\bar{x}$  = Son las medidas de x y y

Las tromboplastinas de referencia tienen valores de ISI asignados, para la PIR 67/40 su ISI por definición es de 1,- por lo que para obtener el ISI de la tromboplastina de referencia (o de trabajo) es:

$$ISI_{MR} = C_{MR} \cdot ISI_{67/40}$$

donde:  $C_{MR}$  = Pendiente de calibración obtenido de la ecuación III. ( $C_{MR} = b$ )

$ISI_{64/40}$  = ISI asignado a la preparación de referencia

Por lo tanto la ecuación II se transforma en:

$$RIN = RP^{ISI}$$

ó

$$RIN = \text{antilog} (ISI \log RP)$$

Para una obtención de resultados más precisos, en lugar de utilizar una media aritmética ordinaria en el RP.

$$TP_N = (t_1 + t_2 + \dots + t_n)/n$$

Se utiliza una media geométrica

$$TP_N = \text{antilog} (\log_1 + \log_2 + \dots + \log_n)/n$$

ya que

$$\text{aritmética} > \text{geométrica}$$

Para la obtención del Radio de Protrombina

$$RP = \frac{TP \text{ paciente}}{TP \text{ normal}}$$

### 1.3.5

#### Inspección de las tromboplastinas

Cada lote de Tromboplastina de cualquier origen deberá satisfacer los criterios siguientes:

1. Sensibilidad al efecto inducido por la cumarina.

La sensibilidad al efecto inducido por la cumarina se determinará por el tiempo de protrombina, utilizando plasmas normales y cumarinizados. El valor obtenido análogo a los obtenidos con otros lotes de la misma tromboplastina-preparados por el mismo fabricante. El índice de Sensibilidad Internacional no deberá exeder de 2.5.

2. Prueba de la sensibilidad al defecto del factor VII.

La prueba de la sensibilidad al defecto del factor VII-se efectúa por el método unifásico del tiempo de protrombina utilizando plasma de un sujeto con una deficiencia-reconocida de factor VII. El RP será análogo al obtenido-con una tromboplastina de referencia de sensibilidad conocido al factor VII.

3. Contenido de Hemoglobina.

Se debe de tratar de obtener preparaciones exentas de hemoglobina.

4. Opacidad y Volúmen de Sedimentación.

Que el tiempo de protrombina pueda ser determinado con equipo fotoeléctrico.

5. Ausencia de Agentes Infecciosos.

Conviene intentar preparar tromboplastinas estériles. - En cualquier caso, se debe hacerse todo lo posible por -- usar las materias primas menos contaminadas y aplicar un procedimiento de fabricación que evite la contaminación - ulterior de microorganismos durante la preparación.

En las tromboplastinas derivadas de tejido humano, habrá que demostrar la ausencia de virus de la hepatitis B- (VHA) y del SIDA (VHI), con métodos de gran sensibilidad.

6. Estabilidad.

La comprobación de estabilidad acelerada se hará por el método de degradación acelerada en el que pueda comprobar

se que las preparaciones de tromboplastina liofilizada -  
conservan su actividad. No debe utilizarse tromboplasti--  
nas que pierdan actividad en una prueba de degradación --  
acelerada.

## I.4 Rango terapéutico óptimo en términos de RIN

### I.4.1

#### Desordenes trombóticos

La trombosis resulta de procesos patológicos donde se desarrollan trombos dentro de la circulación sanguínea.

Observaciones clínicas o situaciones como en el embarazo, cirugía, traumatismos, estados de reposo prolongado, -- tromboflebitis, prótesis cardiacas, etc. Puedan llegar a pro vocar trombosis cerebral o coronaria, en venas profundas de piernas o en otros sitios vascularizados y que ha sido denominado "Estado Hepercoagulable". Estos estados se pueden cla sificar en: Superficies intravasculares dañadas, disminución del flujo sanguíneo, anormalidades de células sanguíneas y - anormalidades plasmáticas, como se observa en la Tabla No. 4

Se ha reducido en un 90% el riesgo de desarrollar embolia sistémica en pacientes con alto riesgo de presentar trom bosis intracardiaca, los cuales requieren una alta dosis de anticoagulantes orales que corresponde a un valor medio de 4 términos de RIN.

El riesgo de trombosis a disminuido considerablemente - debido al uso del RIN como base de anticoagulación en dife-- rentes padecimientos (17,45,47).

Para estaclecer los rangos de RIN han participado un -- gran número de laboratorios en los cuales se han manejado di ferentes grados de anticoagulación, en diferentes padecimiento s, y han observado los cambios que han presentado. Para es tablecer el rango óptimo para cada padecimiento obtenido el límite inferior de RIN para evitar trombosis y el límite superior para no ocasionar sangrado. En las tablas 5,6,7 y 8-- se observan diferentes grados de anticoagulación en térmi-- nos de RIN en diferentes padecimientos (44,51).

$$RIN = RP^{ISI}$$

o

$$RIN = \text{antilog} (ISI \log RP)$$

El ISI viene especificado para cada tromboplastina

En la Figura No. 4 a partir del nomograma, se puede obtener el RIN, conociendo el RP y el ISI de la tromboplastina.

---

### Superficie Intravascul ar Dañada

- . Ateroesclerosis (y condiciones predisponentes como, - diabetes mellitus, hipertensión, la hiperlipidemia).
- . Válvulas cardíacas prostéticas.
- . Tromboflebitis.
- . Vasculitis.
- . Púrpura trombótica trombocitopenica.
- . Homocistinuria.

### Disminución del Flujo Sanguíneo

- . Trombosis venosa profunda (y causas predisponentes, - como inmovilización, compresión venosa, válvula incompetente, etc.).
- . Enfermedad cardíaca valvular.
- . Falla cardíaca congestiva.
- . Arritmia cardíaca.

### Anormalidades Celulares Sanguíneas

- . Policitemia vera
- . Trombocitopenia.
- . Enfermedad celular interna.
- . Hemoglobinuria paroxismal nocturna.
- . Leucemia.

### Anormalidades Plasmáticas

- . Coagulación Intravascul ar diseminada (CID).
- . Estado postoperatorio
- . Embarazo.
- . Uso de anticonceptivos orales.
- . Deficiencia de antitrombina III.
- . Disfibrinogenia.
- . Deficiencia de plasminógeno.
- . Deficiencia de proteína C.
- . Deficiencia de proteína S.

---

Tabla No. 4 Diferentes Estados Hipercoagulables.

## 1.4.2.

Tablas de Rangos Terapéuticos

COMPLICACION	RIN	
	MEDIA	RANGO
Prevención primaria de trombosis venosa.		
Pre-operatorio	2.0	1.5-2.5
Post-operatorio		
Prevención secundaria de trombosis venosa. } }	3.0	2.5-4.0
Trombosis venosa activa y embolia pulmonar. } }		
Prevención de tromboembolismo arterial, incluye válvulas cardíacas artificiales.	Edad 60	
	3,5	3.0-4.5
Trombosis arterial (coronaria)	Edad 60	
	4.0	3.5-5.0

Tabla No. 5 Rangos terapéuticos del Centro de trombosis de - Leiden (CTL) de 1985 (17,49).

COMPLICACION	RIN
Profilaxis de DIV (incluye cirugía de alto riesgo).	2.0-2.5
Cirugía de cadera y operación de femur - fracturado.	
Tratamiento de DIV y EP.	2.0-3.0
Ataques de isquemia transitorios	
DIV y EP recurrente	
Enfermedad arterial	
Injerto arterial	3.0-4.5
Válvula cardíaca prostética e injertos	

DIV = Desarrollo de Trombosis Venosa

EP = Embolia Pulmonar

Tabla No. 6 Rangos terapéuticos propuestos por la Sociedad - Británica de Hematología (SBH) en 1984 (49).

COMPLICACION	MEDIA	RANGO
Anticoagulación pre-operatoria (2 semanas antes de la cirugía)	2.0	1.5-2.5
Cirugía de cadera Prevenición primaria y secundaria de DTV	2.5	2.0-3.0
DTV Y EP activa y prevenición de DTV recurrente	3.0	2.0-4.0
Pacientes con válvulas cardíacas mecánicas	3.5	3.0-4.5

Tabla No. 7 Rangos terapéuticos propuestos por el grupo de consenso Leuven 1984 (49).

COMPLICACION	INTENSIDAD DE ANTICOAGULACION		
	BAJO	MEDIO	ALTO
Anticoagulación pre y post-operatoria			
- Cirugía de cadera	2	2.5	3
- Otras cirugías	1.5	2	2.5
Prevenición primaria y secundaria de - trombosis venosa	2	2.5	3
Flebitis localizada embolia pulmonar, flebitis migratoria	2	3	4
Profilaxis arteria, válvulas cardíacas artificiales	3	3.5	4.5

Tabla No. 8 Rangos terapéuticos propuestos por Behring -- 1985.

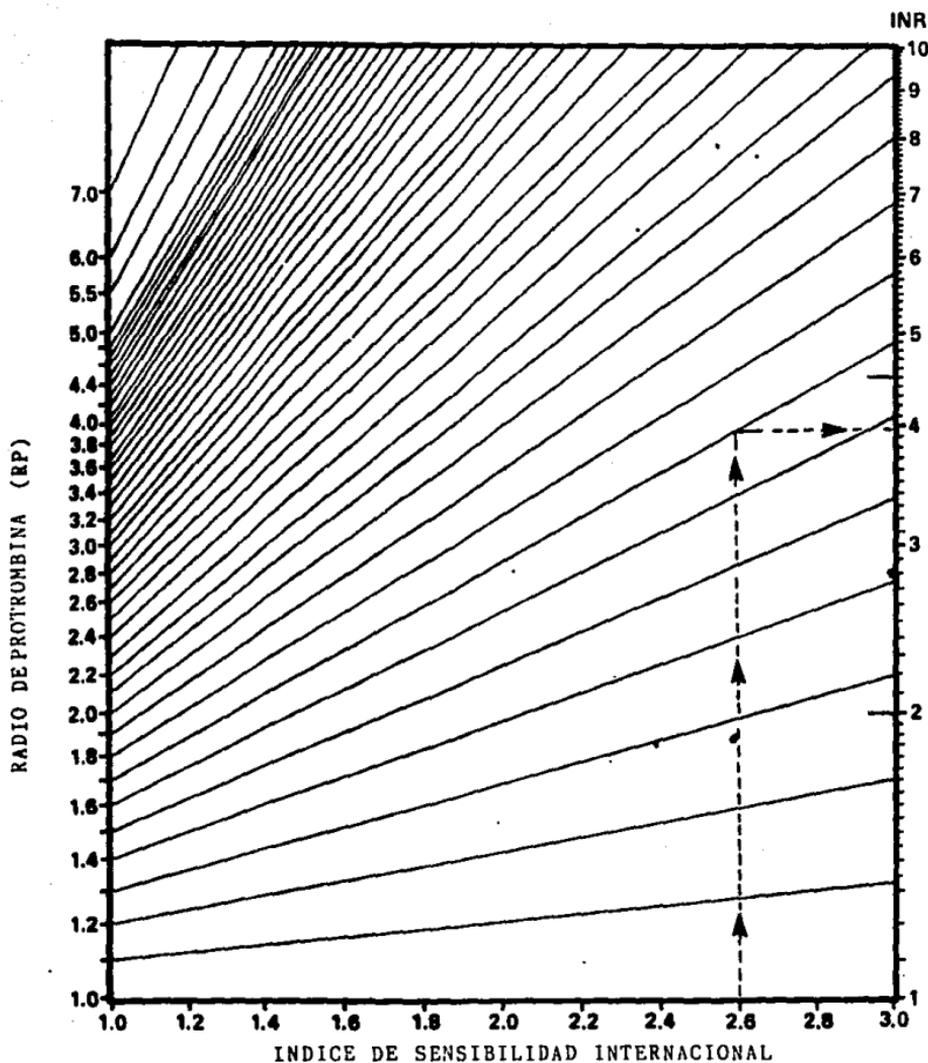


Figura No. 4 Nomograma del cual se obtiene el RIN, determinando el RP y conociendo el ISI.

### I.4.3

#### Desordenes Hepáticos

El hígado, además de los factores vitamina K-dependientes, sintetiza fibrinógeno, precalicreina, quinínogeno de alto peso molecular; factores V, XI, XII, XIII, plasminógeno, Z- $\alpha$ -antiplasmina y antitrombina III.

Pueden desarrollarse problemas hemostáticos complejos en enfermedades hepáticas, pues se afecta la producción de estos factores, que varía en el grado de daño hepático. Una de las enfermedades con daño directo de hepatocitos es el --CHAN (cirrosis hepática alcohólica nutricional) o de enfermedades que de manera indirecta evitan la absorción de vitamina K, la cual es liposoluble, como en la Ictericia Obstructiva. Ambas enfermedades provocan alargamiento del tiempo de protrombina (1,2).

El TP se mide para prevenir o controlar la hemorragia - en este tipo de pacientes, pues frecuentemente se realizan - transfusiones de plasma fresco, con concentración óptima de factores de la coagulación.

El TP en este tipo de enfermedades si es recomendable - medirlo en segundos y en porcentaje de actividad (39).

## CAPITULO II

### II.1 Fundamentación del tema

En la ENEP Zaragoza se han realizado con anterioridad - investigaciones sobre la producción de la tromboplastina tisular liofilizada de cerebro de conejo.

Se eligió este tema, pues no se conoce el comportamiento de la tromboplastina en pacientes con problemas de coagulación (CHAN, Cardiopatías, Embolia Pulmonar, Trombosis Venosa, etc.), así como también se desconoce su valor de ISI, -- que exige la OMS para observar su sensibilidad.

Una vez que el reactivo tenga un ISI adecuado y que su comportamiento clínico en los diferentes padecimientos sea - homogéneo se podrá continuar con la fabricación completa y - de esta forma a corto plazo producir un reactivo de acuerdo a la infraestructura de la ENEP Zaragoza. Ya que la política de la escuela es producir reactivos que sean: de buena calidad, bajo costo y que puedan competir con el producto importado.

## II.2 Planteamiento del problema

El control del tratamiento, de pacientes con anticoagulantes orales entraña una cuidadosa vigilancia determinada por la prueba de Tiempo de Protrombina (TP) realizado con el empleo de Tromboplastinas en el laboratorio. La determinación de las propiedades coagulantes del paciente mediante la adición de una preparación adecuada de tromboplastina exige el empleo de tromboplastinas calibradas (con un valor de -- ISI) de cada lote de tromboplastina líquida (cerebro de conejo) la cual consistirá en un lote de la misma tromboplastina (Simplastin Excel de cerebro de conejo) o de una tromboplastina análoga (Thromborel S de placenta humana) calibrada -- frente a la preparación internacional de referencia apropiada.

El procedimiento de calibración comprende la determinación de una serie de tiempos de protrombina utilizando plasmas normales y cumarinizados, tanto de la tromboplastina de referencia como con la tromboplastina líquida.

En pacientes anticoagulados de cualquier tipo los resultados de TP no deben reportarse en segundos, radio de protrombina (RP), ni en porcentaje de actividad, pues estos no toman en cuenta las diferencias de sensibilidad de las diferentes tromboplastinas a los efectos de anticoagulantes orales. Una vez (calibrando la tromboplastina) obteniendo el -- ISI se podrá reportar el TP en radio internacional normalizado (RIN) que proporciona una medida universal independiente de la fuente de tromboplastina, para pacientes anticoagulados.

En pacientes con problemas de coagulación, que no sean tratados con anticoagulantes orales, como en el caso del -- CHAN, Síndrome Ictérico, vitamina K-dependientes es necesario especificar también la sensibilidad de la tromboplastina para la prueba de TP. En este caso es posible reportar el TP en segundos, Radio de Protombina y en % de actividad.

### II.3 Objetivos

1. Estandarizar la técnica de obtención de tromboplastina líquida, hasta obtener lotes con la misma sensibilidad.
2. Utilizando plasmas normales y anticoagulados obtener el ISI, para así calcular el RIN, de la tromboplastina líquida por comparación con una preparación de referencia terciaria.
3. Utilizando tromboplastinas de diferente sensibilidad, construir curvas de referencia mediante el método de Quick.
4. Hacer una comparación del comportamiento de la tromboplastina líquida, con la referencia en diferentes casos clínicos.

#### II.4 Hipótesis

Aplicado el método de Biggs y Denson modificando la tromboplastina tisular líquida de cerebro de conejo, tendrá un ISI menor a 2.5.

Además de que su comportamiento clínico en los diferentes padecimientos será de forma similar al de la tromboplastina de referencia.

## CAPITULO III

### PARTE EXPERIMENTAL

#### III.1 Recursos

##### III.1.1

##### Material

Tijeras

Mortero con pistilo de porcelana

Vasos de precipitado 100,250 ml.

Cajas de petri

Desecador

Tubos de ensaye de vidrio 12 x 75, 13 x 100 y -  
18 x 150 mm

Pipetas graduadas 1.0, 5.0 y 10.0 ml

Espátula

Papel filtro poro cerrado

Papel parafilm

Tubos de ensaye de plástico 12 x 75 mm

Gradilla metálica

Bulbos de goma

Recipiente de plástico para gradilla

Pipetas pasteur

Hielo en trozos

Gasas

Ligaduras

Probeta 100 ml

Masking tape

Tubos de vidrio al vacio 12 x 75 mm

Agujas estériles calibre 22 x 32 mm

Porta agujas para vacuntainer

Algodón

Termómetro -10 a 110°C

Vidrio de reloj

Tapones de hule

Agitador de vidrio

Pipeta automática Gilson (Modelo F200) para 0.2 ml  
Pipeta automática Gilson (Modelo F100) para 0.1 ml  
Copas de plástico para el coagulómetro  
Puntas amarillas desechables (para 0.1 y 0.2 ml)

### III.1.2

#### Material biológico

- . Plasma humano normal citratado
- . Plasma humano anormal citratado
- . Plasma humano anticoagulado citratado
- . Cerebro de conejo 6-24 horas post-mortem
- . Tromboplastina cálcica liofilizada de placenta humana + Thromborel S (Lote 505620-B) Behring ISI = 1.17
- . Tromboplastina cálcica liofilizada de cerebro de conejo
  - + Simplastin Excel S (lote 100745)  
Organon Teknika ISI = 1.1
  - + Simplastin Excel (lote 13005199)  
Organon Teknika ISI = 1.91
- . Tromboplastina líquida de cerebro de conejo
  - + Producida en ENEP Zaragoza (lote Z<sub>1</sub>-Z<sub>6</sub>)

### III.1.3

#### Reactivos

Agua destilada estéril  
Solución salina isotónica estéril 0.90% (solución fisiológica)  
Alcohol etílico 70%  
Citrato trisódico estéril 0.02 N  
Acetona grado reactivo (Baker Analizado)  
Acetona destilada 48-57°C  
Silica gel seca  
Agua destilada no estéril

### III.1.4

#### Equipo

Centrífuga clínica, modelo TJ-6 Beckman

**Centrífuga refrigerada, modelo EC PRI Davon/EC División**  
**Balanza analítica Mettler H 80**  
**Baño metabólico Mapsa modelo BMT-4**  
**Refrigerador American**  
**Congelador modelo REVCO, temperatura - 20°C**  
**Coagulómetro Biomatic 2000, modelo 5223 Bausch & Lomb**  
**Cronómetro manual**  
**Vortex**

### III.2 Métodos

El presente trabajo fue desarrollado primeramente en el Laboratorio Central de Análisis Clínicos Zaragoza para la obtención de 25 lotes de tromboplastina tisular líquida, de cerebro de conejo, de los cuales solo 6 tenían un intervalo de 0.5 segundos en el cien % de actividad.

Para la calibración indirecta de los lotes Z<sub>2</sub> y Z<sub>6</sub> la parte experimental se desarrolló en el laboratorio del Hospital General de Zona # 53 (HGZ # 53) de los Reyes la Paz, en colaboración con el laboratorio de Coagulación Especial, perteneciente al Hospital General del Centro Médico "La Raza", quien proporcionó 160 plasmas anticoagulados.

Para la comparación clínica de las tromboplastinas, se determinaban diariamente los TP de todas las muestras, con el reactivo de referencia (Thromborel S) y se seleccionaban todos aquellos plasmas (de pacientes internos y externos) -- con CHAN, Ictericia Obstructiva, Valvulopatías y Tromboflebitis que tuvieran un TP < al 70% de actividad y evaluándose nuevamente con el lote experimental Z-2 por duplicada. Hasta obtener 20 pacientes para cada padecimiento.

### III.2.1

#### Obtención de tromboplastina tisular

##### A) Método común para su obtención

- . Obtener el cerebro de conejo de 6-24 hrs. post-mortem.
- . En una caja de petri, con agua destilada, se le --  
quitan perfectamente vasos sanguíneos y meninges.
- . Se fragmenta el cerebro en pequeños pedazos de 1-2  
cm<sup>3</sup>.
- . En un mortero se lavan tres veces los fragmentos -  
de cerebro, con acetona, sin macerar.
- . Se reemplaza el sobrenadante de acetona, por aceto  
na limpia y se macera hasta obtener un ag  
pecto de ojuelas (se realizan 3 macerados).
- . El último macerado se hace con acetona grado reac  
tivo, hasta obtener un aspecto de granulado.
- . El granulado se deja secar en papel filtro por me  
dia hora y se guarda en el desecador.

##### B) Obtención de Tromboplastinas con diferente sensibili dad

- . Para la obtención de tromboplastinas con diferente  
sensibilidad se realizaron modificaciones en cuan  
to al tiempo de macerado, en comparación con la --  
técnica común. Se obtuvieron un total de 25 lotes,  
de los 25 se seleccionaron solamente 6 pues presen  
taban un intervalo de 0.5 segundos de diferencia -  
en el cien por ciento de actividad.
- . Para probar su sensibilidad de las 6 tromboplasti  
nas se les realizaron sus curvas de referencia, --  
con pool de plasmas, de la misma forma que con los  
reactivos de referencia Thromborel S y Simplastin-  
Excel, y de esta forma se eligieron los lotes más  
idóneos para la calibración.

##### C) Preparación líquida de tromboplastina

- . Pesar 0.5 g de granulado de tromboplastina en --

- 10 ml de solución salina estéril.
- . Incubar a 37°C agitando en el vortex cada cinco minutos, un minuto, durante media hora.
  - . Dejar sedimentar por 30 minutos.
  - . Separar el sobrenadante y colocarle la cantidad -- proporcional de cloruro de calcio 0.02 M.
  - . Dejar en el refrigerador hasta antes de utilizar.

### III.2.2

#### Selección de plasmas

##### A) Normales

Se seleccionaron plasmas de sujetos sanos ambulatorios y preoperatorios de ambos sexos, que no presentaron defectos en el sistema de coagulación, con un porcentaje de TP arriba del 70%.

El Pool de plasmas se realiza con 5 donadores sanos.

- . La sangre se obtiene por punción venosa con el sistema de vacutainer, evitando la hemólisis y la -- contaminación con líquidos tisulares.
- . El tubo de vacutainer al vacío, contiene 1 parte- (0.5ml) de citrato trisódico (0.11 M) que se mezcla con 9 partes de sangre (4.5 ml).
- . Agitar suavemente para evitar la formación de hemólisis.
- . Centrifugar a 3000 rpm por 15 minutos.
- . Separar el plasma sobrenadante.
- . Conservar el plasma a 4°C en el refrigerador, hasta la realización de la determinación.
- . Procesar en un máximo de 2 horas.

##### B) Anormales

Se seleccionaron plasmas de pacientes internos, en promedio 20 para cada padecimiento, que presentaron alteraciones en el tiempo de protrombina (alargamiento). Los padecimientos analizados fueron: Cirrosis - Hepática Alcohólica Nutricional (CHAN), Ictericia -- Obstructiva, Tromboflebitis y Pacientes con Válvulas

### Cardíacas.

La técnica para la obtención fue de la misma forma que para plasmas normales.

El tiempo de protrombina se realizaba tanto con el reactivo de referencia como con el lote calibrado.

### C) Anticoagulados

Se seleccionaron plasmas de pacientes que estuvieron recibiendo tratamiento con anticoagulantes orales, entre un periodo de 3-6 semanas, derivados de la indanediona o cumarina (warfarina, fenindiona, etc.), con un rango de RIN 1.5 a 5.

La toma de muestra es de la misma forma que la anterior.

Estos plasmas fueron utilizados en la calibración de tromboplastinas.

## III.2.3

### Realización del tiempo de protrombina (prueba de Quick)

El tiempo de protrombina se realizó con el equipo automatizado, Coagulómetro biomatic 2000.

- . Calentar previamente a 37°C un volumen suficiente de Tromboplastina (0.2 ml por prueba) no menos de 15 minutos y no más de 60 minutos.
- . Colocar 0.1 ml de plasma, con la pipeta semiautomática, a la copa del coagulómetro.
- . Incubar de 2-3 minutos a 37°C y no más de 3 minutos.
- . Añadir enérgicamente 0.2 ml de tromboplastina recalificada, iniciándose simultáneamente el cronometraje y deteniéndose al momento de formarse el coágulo. El tiempo aparece en la pantalla en segundos.
- . Cada TP se realiza por duplicado.

NOTA. En el transcurso de la medición de TP, los demás plasmas se conservan de 2-6°C en hielo picado.

La valoración se realiza dentro de las dos horas después de la colección de la muestra.

### III.2.4

#### Trazado de la curva de referencia (% Quick)

El tiempo de protrombina en segundos se transformó en porcentaje de actividad utilizando una curva de referencia.

La curva de referencia se prepara a partir de las diluciones de un pool de plasmas citratado, de un mínimo de 5 donadores sanos.

Las diluciones se realizan con solución salina 0.9% estéril, como se indica a continuación.

PORCIENTO DEL NORMAL		100	50	25	12.5	10
A	Dilución del plasma	Sin diluir	1+1	1+3	1+7	1+9

El tiempo de protrombina para cada dilución se realiza por triplicado, dentro de los primeros 30 minutos de realizadas las diluciones.

Los tiempos de protrombina se grafican en función del porcentaje de actividad sobre papel doble logarítmico.

Alternativamente puede representarse el recíproco del porcentaje en las ordenadas y el tiempo en segundos en las abcisas en papel milimétrico. Obteniéndose una línea recta.

El trazado de la curva se puede ver afectado por:

- . La presencia de filamentos de fibrina en el plasma.
- . Plasmas hemolizados o lipémicos.
- . Errores técnicos como variación en la temperatura, -- tromboplastina o cloruro cálcico contaminado, variación en la relación uno a nueve de anticoagulante con sangre.
- . Incubación corta o prolongada de reactivos.
- . Errores en la técnica de lectura del TP.

NOTA. Para un mejor ajuste de los datos, se utilizó el método de mínimos cuadrados.

### III.2.5

#### Calibración de tromboplastinas

##### A) Procedimiento

El procedimiento de calibración comprende la determinación de una serie de tiempos de protrombina, realizándose 8 determinaciones para cada uno de los 10 días de prueba, de los cuales 6 eran plasmas de pacientes anticoagulados y dos de pacientes normales, -determinados tanto por la preparación de referencia como con la tromboplastina a calibrar.

Las PRT terciarias fueron:

- . Thromborel S ISI = 1.17
- . Simplastin Excel S ISI = 1.1
- . Simplastin Excel ISI = 1.91

Las tromboplastinas a calibrar fueron la Z<sub>2</sub> y Z<sub>6</sub>.

Todo el manipuleo de los plasmas se realizó con material de plástico.

La determinación del punto final se realizó con -- equipo automatizado (Coagulometer Biomatic 2000).

Cada muestra de plasma se evaluó por única vez, siguiendo el procedimiento de Quick.

El orden de lectura fue el siguiente:

PLASMA	Preparación de Referencia de trabajo (PRT)		Preparación a Calibrar (b)	
	Orden de prueba	Tiempo de coagulación (seg)	orden de prueba	Tiempo de coagulación (seg)
Normal 1	I	_____	II	_____
Paciente 1	III	_____	IV	_____
Paciente 2	V	_____	VI	_____
Paciente 3	VII	_____	VIII	_____
Paciente 4	IX	_____	X	_____
Paciente 5	XI	_____	XII	_____
Paciente 6	XIII	_____	XIV	_____
Normal 2	XV	_____	XVI	_____

## B) Interpretación

Una vez obtenidos los 80 valores de los 10 días de evaluación, se sometieron a un análisis de regresión ortogonal, a fin de obtener un ISI correspondiente a la tromboplastina de trabajo ( $Z_2$  y  $Z_6$ ) y un coeficiente de variación del índice de sensibilidad menor al 3%. En ciertos países puede ser aceptable una precisión de 5%.

## C) Evaluación estadística

El ISI de la tromboplastina a calibrar se obtiene anotando los tiempos de protrombina obtenidos con las dos tromboplastinas con ejes logarítmicos, en el eje Y la preparación de referencia y en el eje X los de la tromboplastina a calibrar, trazando una línea recta y calculando la pendiente como se observa en la figura 5. La técnica utilizada es la regresión ortogonal. Con esta técnica se calcula la pendiente  $C_{PRT,b}$  aplicando las siguientes fórmulas.

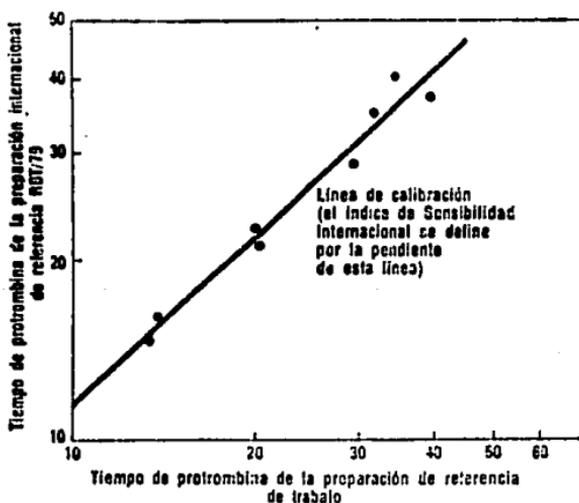


Figura No. 5 Gráfico logarítmico doble de los tiempos de protrombina para la determinación del Índice de Sensibilidad Internacional.

$$C_{PRT,b} = n + (n^2 + 1)^{1/2}$$

$$\text{donde } n = \frac{\sum (LTP_{PRT} - \overline{LTP_{PRT}})^2 - \sum (LTP_b - \overline{LTP_b})^2}{2\sum (LTP_{PRT} - \overline{LTP_{PRT}}) (LTP_b - \overline{LTP_b})}$$

$LTP_{PRT}$  = Logaritmo del TP individual, empleando PRT.

$\overline{LTP_{PRT}}$  = media de los logaritmos del TP, empleando PRT.

$LTP_b$  = logaritmo del TP individual, empleando la tromboplastina a calibrar.

$\overline{LTP_b}$  = media de los logaritmos del TP, empleando la tromboplastina a calibrar.

$\sum$  = denota la sumatoria de los términos de todos los plasmas.

El índice de sensibilidad internacional de la trombo---  
plastina a calibrar ISI b se obtiene como sigue:

$$ISI_{PRT,b} = ISI_{PRT} \cdot C_{PRT,b}$$

El error estandar del  $ISI_{PRT}$  se calcula como:

$$SE_{(ISI,PRT)} = ISI_{PRT} \cdot SE_{(C_{PRT,b})}$$

La fórmula para calcular  $SE_{(C_{PRT,b})}$ , usando la regresión -  
ortogonal es:

$$SE_{(C_{PRT,b})} = \left\{ \frac{[(1 + C^2) U + VC]}{n^2} VC \right\}^{1/2}$$

donde:

n = No. de plasmas probados (pacientes y normales).

C =  $C_{PRT,b}$

U =  $\sum (LTP_{PRT} - \overline{LTP_{PRT}}) (LTP_b - \overline{LTP_b}) / n$

V =  $\left\{ \sum (LTP_{PRT} - \overline{LTP_{PRT}})^2 - C (LTP_{PRT} - \overline{LTP_{PRT}}) (LTP_b - \overline{LTP_b}) \right\} / (n - 2)$

El coeficiente de variación en por ciento es:

$$\% CV_{ISI PRT} = 100 \cdot SE_{ISI PRT} / ISI_{PRT,b}$$

Como el  $ISI_{PRT}$  y la  $C_{PRT,b}$  son determinados en ejerci---  
cios de calibración independiente, el error estandar de ISI-  
b en función de las imprecisiones de  $ISI_{PRT}$  y  $C_{PRT,b}$  puede -

calcularse como:

$$SE_{ISI,b} = \left[ \left\{ ISI_{PRT} \cdot SE_{(CPRT,b)} \right\}^2 + \left\{ CPRT,b \cdot SE_{ISI,PRT} \right\}^2 \right]^{1/2}$$

el coeficiente de variación del  $ISI_b$  será entonces.

$$\% CV_{ISI,b} = 100 \cdot SE_{ISI,b} / ISI_b$$

Todos los cálculos fueron realizados en una calculadora CASIO fx - 3800 P.

### III.2.6

#### Formas de reportar el TP

El tiempo de protrombina obtenido puede convertirse en porcentaje de actividad (Quick  $\%$ ), Radio de Protrombina (RP) o Radio de TP Internacional Normalizado (RIN).

. Porcentaje de actividad

Este se obtiene interpolando el tiempo en segundos, - en la curva de referencia, para así obtener el % de - actividad. normal  $\cong$  100%

. Radio de Protrombina (RP)

Se define como la relación

$$RP = \frac{TP \text{ paciente en segundos}}{TP \text{ normal en segundos}} \quad \text{normal} \leq 1.2$$

El plasma normal puede ser un estandar o un pool de - plasmas.

. Radio de TP Internacional Normalizado (RIN)

El RIN se calcula a partir del Indice de Sensibilidad Internacional (ISI)

$$RIN = RP^{ISI}$$

o

$$RIN = \text{antilog} (ISI \log RP)$$

Para cada lote de tromboplastina se determina un valor-

ISI mediante su calibración frente a una preparación de referencia. Este dato lo tiene que especificar el fabricante.

### III.2.7

#### Interpretación de la prueba de TP

La prueba del Tiempo de Protrombina se utiliza sobre todo en la selección prequirúrgica para detectar problemas de hemorragias potenciales. Una prueba de TP anormal o alargada indica normalmente que se ha producido una disminución de nivel de uno o más factores en la vía extrínseca o común de la coagulación sanguínea. Esta condición puede aparecer debido a trastornos de coagulación de tipo hereditario, deficiencia de vitamina K, enfermedad hepática o administración de fármacos. La prueba de TP es también el ensayo de laboratorio más corriente utilizado para controlar la terapia anticoagulante oral, puesto que es sensible a los factores II, VII, y X. El TP no es sensible a deficiencias en el sistema de coagulación intrínseca (factores VIII, IX, XI y XII) ni a disminuciones plaquetarias; ni tampoco puede utilizarse para controlar un tratamiento con heparina.

### III.2.8

#### Comparación clínica

- A) Se evaluó primero si existía diferencia estadística entre la tromboplastina calibrada y la de referencia utilizando la distribución t. (56,57).

$$t_{\text{calc}} = \frac{ISI_{\text{PRT}} - \bar{X}_{\text{ISI } b}}{S_{\text{ISI } b} / \sqrt{n}}$$

$S_{\text{ISI},b}$  = ISI de la PRT

$\bar{X}_{\text{ISI},b}$  = media de los ISI obtenidos en la calibración.

$S_{\text{ISI},b}$  = Desviación estándar de los ISI obtenidos en la calibración

n = número de datos

Hipótesis

$H_0$  = ISI PRT = ISI b (nula)

$H_a$  = ISI PRT  $\neq$  ISI b (alterna)

Regla de decisión

$$+ \text{ Si } \left| t_{\text{calc}} \right| < t_{\text{tab}}^{1-0.05}_{n-2g1} \quad \text{no se rechaza}$$

Ho, los ISI son iguales

$$+ \text{ Si } \left| t_{\text{calc}} \right| > t_{\text{tab}}^{1-0.05}_{n-2g1} \quad \text{se rechaza}$$

Ho, los ISI son diferentes

- B) Para la comparación de las tromboplastinas en los diferentes casos clínicos, se utilizó la distribución t. suponiendo lo siguiente (56,57)

$$\text{Si } RIN_{\text{PRT}} = RIN_b \quad \text{entonces}$$

$$RIN_{\text{PRT}} - RIN_b = 0$$

por lo tanto

$$t_{\text{calc}} = \frac{0 - \bar{X}_{\text{DIF}}}{S_{\text{DIF}}/\sqrt{n}}$$

$\bar{X}_{\text{DIF}}$  = media de las diferencias entre las 2 tromboplastinas

$S_{\text{DIF}}$  = desviación estandar de las diferencias.

n = número de datos

Hipótesis

$$H_0 = RIN_{\text{PRT}} - RIN_b = 0$$

$$H_a = RIN_{\text{PRT}} - RIN_b \neq 0$$

Regla de decisión

$$+ \text{ Si } \left| t_{\text{calc}} \right| < t_{\text{tab}}^{1-0.05}_{n-2g1} \quad \text{no se rechaza}$$

Ho, los RIN son iguales

$$+ \text{ Si } \left| t_{\text{calc}} \right| > t_{\text{tab}}^{1-0.05}_{n-2g1} \quad \text{se rechaza}$$

Ho, los RIN son diferentes

En tromboflebitis y valvulopatías, como se utilizan anticoagulantes, el RIN es el parámetro de comparación.

En CHAN e Ictericia Obstructiva, no se utilizan anticoag<sup>u</sup>lantes, el parámetro de comparación es el % de actividad.

NOTA: El lote experimental utilizado para medir el TP - de los pacientes fue el Z - 2 y el reactivo de re<sup>u</sup>ferencia fue el Thromborel-S.

## IV RESULTADOS

### IV.1

#### Selección de las tromboplastinas a calibrar

- a) A continuación se muestran las curvas obtenidas para los 6 lotes de tromboplastina líquida (Z<sub>1</sub>-Z<sub>6</sub>) y de las preparaciones de referencia.

Z <sub>1</sub>	}	Tromboplastina líquida obtenida en la ENEP Zaragoza	(cerebro de conejo)
Z <sub>6</sub>			
SIM	Referencia de SIMPLASTIN EXCEL de Organon Teknika (cerebro de conejo)		
T-S	Referencia de THROMBOREL-S de Behring (placenta humana)		

- b) Datos para las curvas de referencia

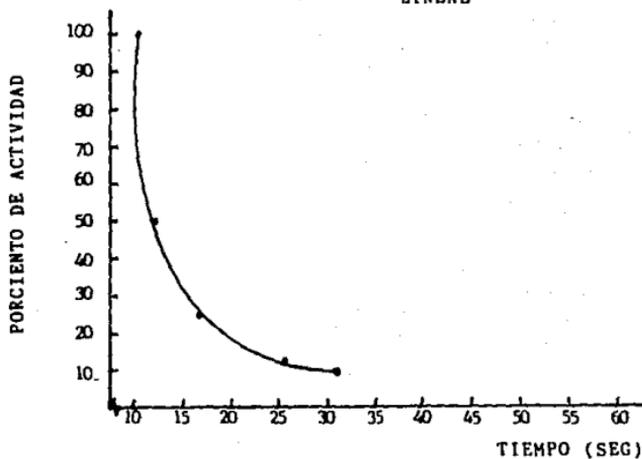
XACT	Z-1	Z-2	Z-3	Z-4	Z-5	Z-6	SIM	T-S
100	10.6	11.1	11.5	12.0	12.4	13.2	10.8	10.8
50	12.4	13.6	14.3	14.4	15.0	15.5	13.7	16.2
25	16.9	18.3	21.0	20.8	21.5	22.5	20.2	27.0
12.5	26.0	31.0	33.1	33.8	34.6	37.3	31.2	46.0
10.0	30.7	35.0	37.6	39.0	42.4	44.0	36.0	56.6

NOTA: Los datos para cada curva fueron obtenidos, de 5-días diferentes de trabajo, a partir de pool de plasmas diferentes.

- c) Al final de las curvas de referencia se muestra una tabla de datos, para tromboplastinas líquidas de diferente sensibilidad.

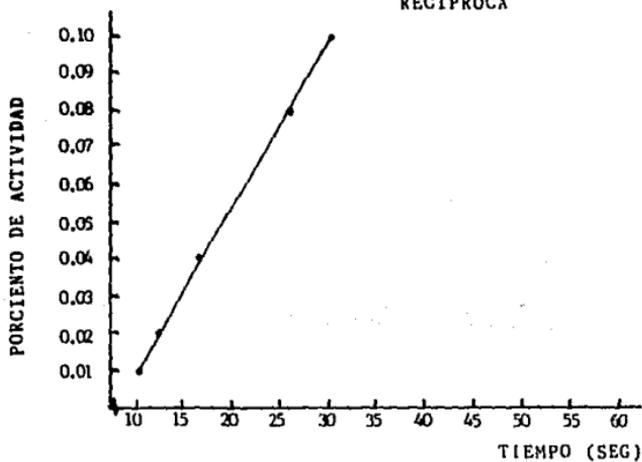
Dependiendo de la sensibilidad, de tromboplastina -- producida, van a ser los datos utilizados.

LINEAL

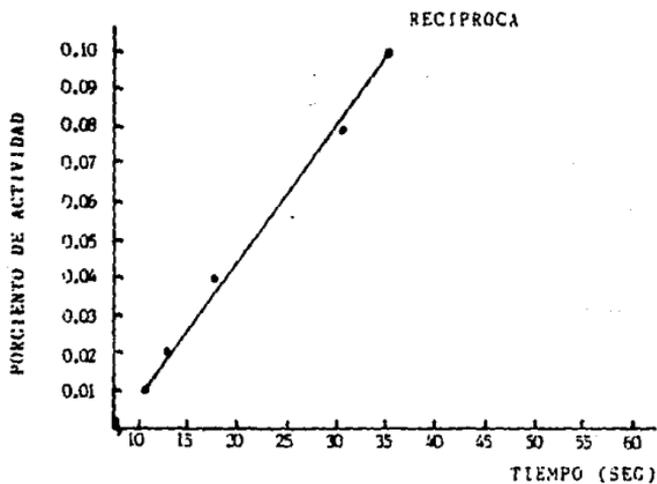
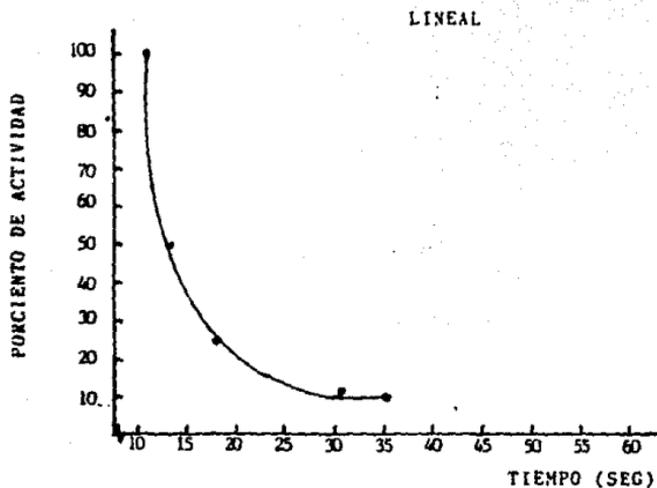


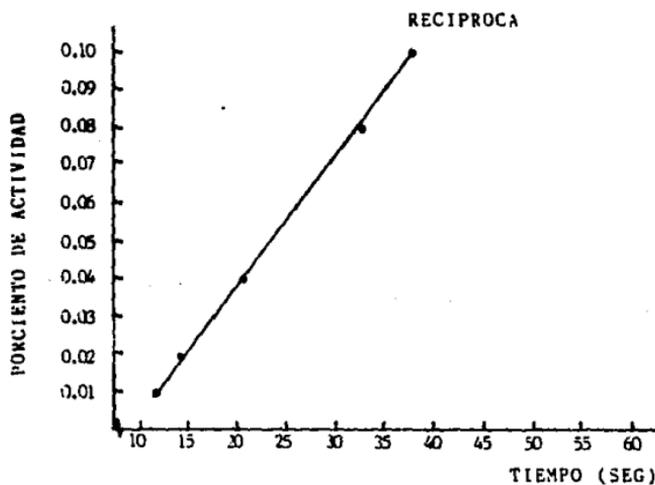
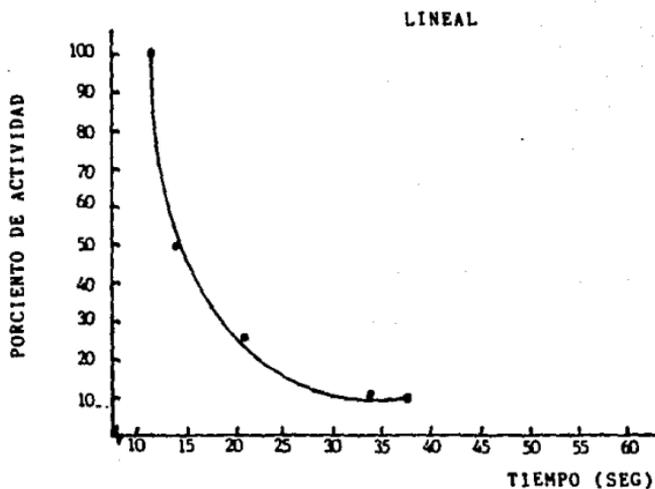
ZACT	T(SEG)
100.0	10.6
50.0	12.4
25.0	16.9
12.5	26.0
10.0	30.7

RECIPROCA



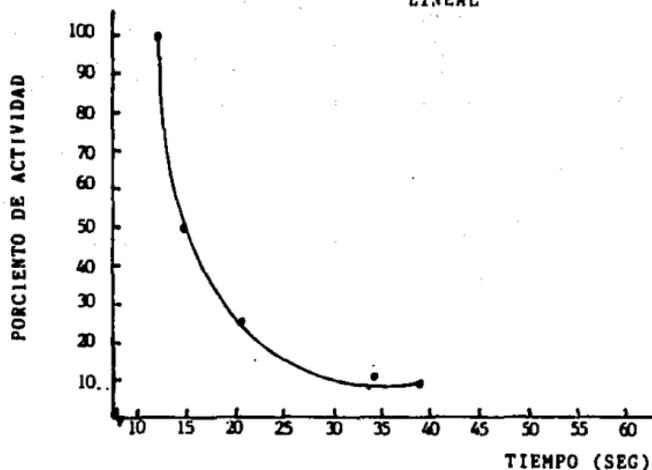
$r = 0.999$   
 $a = -0.036$   
 $b = 4.4 \times 10^{-3}$   
 $y = 0.0044 x - 0.036$   
 $\frac{1}{y} = x \text{ ACT}$





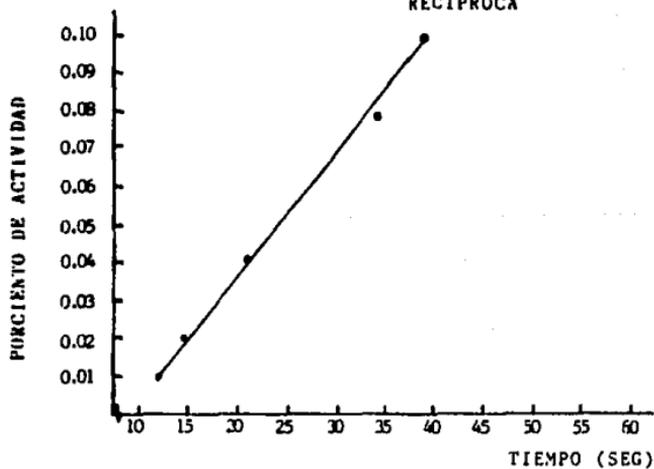
Gráfica No. 3 Curva de referencia del lote Z-3

LINEAL



ZACT	T(SEG)
100.0	12.0
50.0	14.4
25.0	20.8
12.5	33.8
10.0	39.0

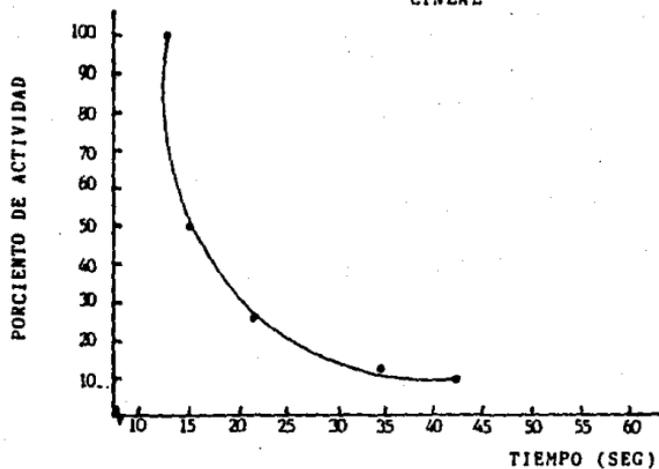
RECIPROCA



$r = 0.999$   
 $a = -0.027$   
 $b = 3.2 \times 10^{-3}$   
 $y = 0.0032 \times -0.027$   
 $\frac{1}{y} = Z \text{ ACT}$

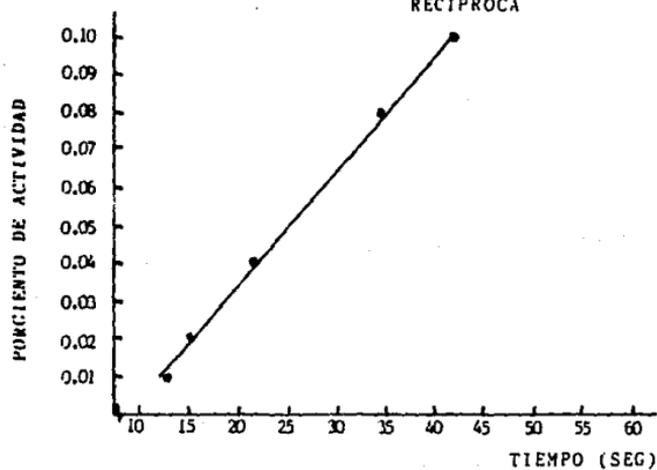
Gráfica No. 4 Curva de referencia del lote Z-4

LINEAL



ΣACT	T(SEG)
100.0	12.4
50.0	15.0
25.0	21.5
12.5	34.6
10.0	42.4

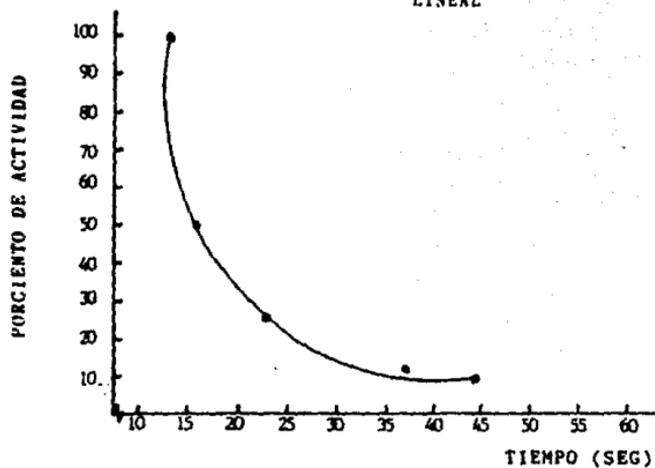
RECIPROCA



$r = 0.999$   
 $a = -0.025$   
 $b = 2.9 \times 10^{-3}$   
 $y = 0.0029x - 0.025$   
 $\frac{1}{y} = \Sigma \text{ACT}$

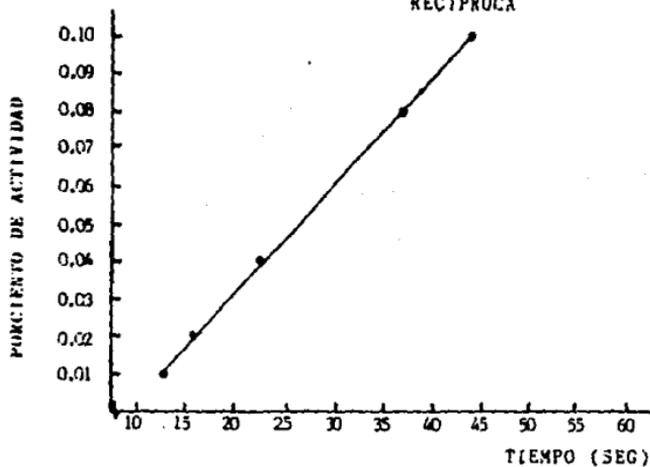
Gráfica No. 5 Curva de referencia del lote Z-5

LINEAL



%ACT	T(SEG)
100.0	13.2
50.0	15.5
25.0	22.5
12.5	37.3
10.0	44.0

RECIPROCA



$$r = 0.999$$

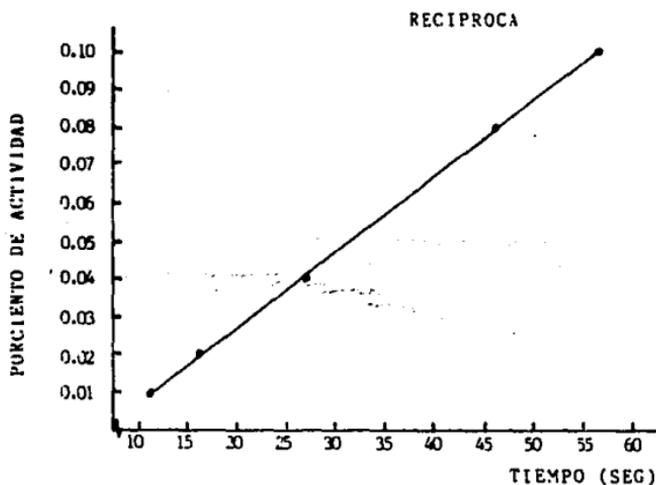
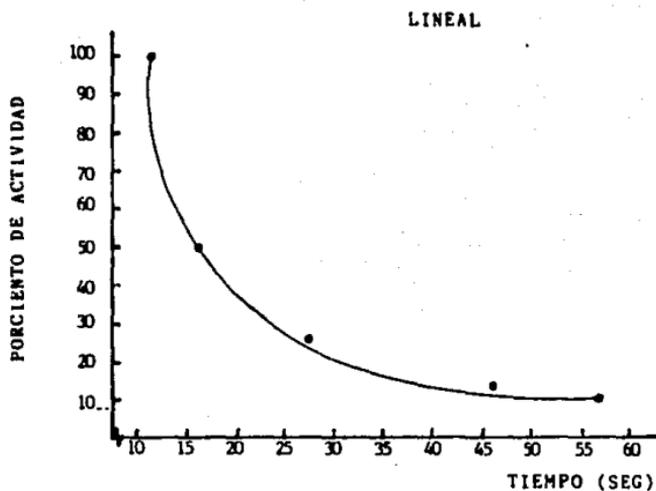
$$a = -0.025$$

$$b = 2.8 \times 10^{-3}$$

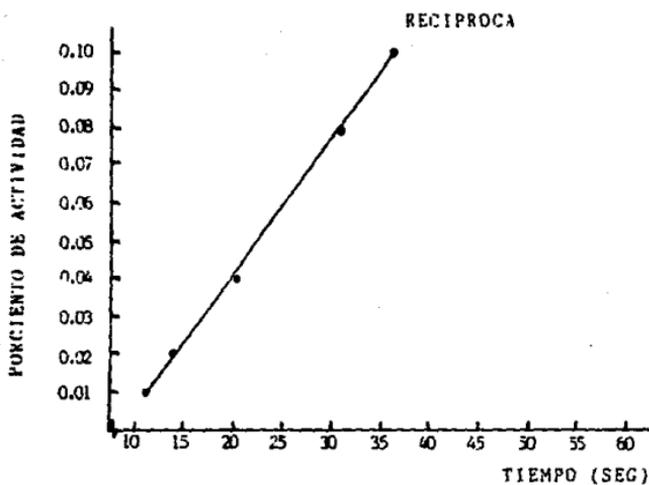
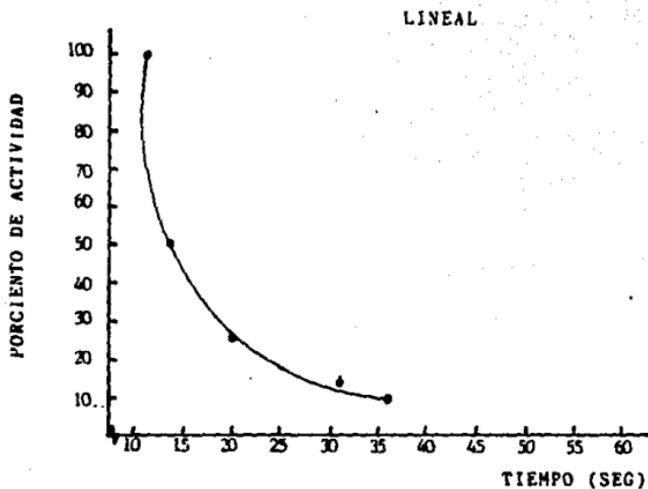
$$y = 0.0028x - 0.025$$

$$\frac{1}{y} = \% \text{ ACT}$$

Gráfica No. 6 Curva de referencia del lote Z-6



Gráfica No 7 Curva de referencia de Thromborel-S 505620-B



Gráfica No. 8 Curva de referencia de Simplastin Excel 13005199

TIEMPO (SEG) / % ACTIVIDAD

	Z <sub>1</sub> -10.6	Z <sub>2</sub> -11.1	Z <sub>3</sub> -11.5	Z <sub>4</sub> -12.0	Z <sub>5</sub> -12.4	Z <sub>6</sub> -13.2	S-10.8	T-10.8
SEG.	%							
9.5	>120							
10.0	116							
10.3	100	>120						>120
10.6	89	107					>120	112
10.9	80	100	>120	>120			107	105
11.2	72	87	117	119	>120		100	100
11.5	65	79	100	106	111		87	94
11.8	60	73	95	100	100	>120	79	89
12.1	56	67	87	89	93	112	73	84
12.4	52	63	80	81	86	100	68	80
12.7	49	59	74	75	80	94	63	76
13.0	46	55	69	70	74	87	60	73
13.3	43	52	64	66	70	81	56	70
13.6	41	49	60	62	65	76	53	67
13.9	39	47	57	58	62	71	50	65
14.2	37	44	54	55	59	67	47	62
15.0	32	39	47	48	51	58	42	56
15.5	30	37	43	45	47	54	39	54
16.0	28	34	40	42	44	49	37	51
16.5	27	32	38	39	41	46	34	48
17.0	25	31	36	37	39	43	32	46
17.5	24	29	34	36	37	41	30	44
18.0	23	27	32	33	35	38	29	42
19.0	21	25	29	29	32	35	26	39
20.0	19	23	26	27	29	32	24	36
22.0	16	20	22	23	25	27	20	32
24.0	14	17	19	20	21	23	18	28
26.0	12	15	17	18	19	20	16	25
28.0	11	14	15	16	17	18	14	23
30.0	10	12	14	14	15	17	13	21
32.0	9	11	13	13	14	15	12	19
34.0	9	10	12	12	13	14	11	18
36.0	8	9	11	11	12	13	10	17
38.0	7	9	10	10	11	12	9	16
40.0	7	8	9	9	10	11	9	15
42.0	6	8	9	9	10	10	8	14
46.0		7	8	8	9	9	7	12
50.0		6	7	7	8	8	7	11
54.0			6	7	7	8	6	10
56.0				6	7	7		10
60.0					6	7		9
64.0						6		8
70.0								7
75.0								7

Tabla 9 CURVAS DE TROMBOPLASTINAS CON DIFERENTE SENSIBILIDAD

## IV.2 Calibración de tromboplastinas

### IV.2.1

#### Primera calibración

Para la primera calibración indirecta se seleccionó el lote Z-2, pues es el lote que se obtiene cuando se trabaja la técnica común estandarizada. Además de que su curva de referencia es muy similar a la del SIMPLASTIN EXCEL (tromboplastina análoga de especie).

Se utilizaron 2 tipos de tromboplastinas de referencia, para seleccionar aquella que de un % de coeficiente de variación menor, para una segunda calibración.

A-1 Estandarización indirecta.

Fue utilizado el SIMPLASTIN EXCEL S como material de referencia, en 10 días diferentes de trabajo.

Día	Tiempos de protrombina				Día
	PRT	b	PRT	b	
1	13.1	10.8	13.7	11.0	6
	55.8	23.9	24.5	15.0	
	80.7	25.7	41.9	20.2	
	31.3	17.3	27.6	16.2	
	30.2	17.4	30.2	16.9	
	34.0	18.2	34.5	18.6	
	24.9	15.1	28.7	15.9	
13.0	10.8	14.0	11.3		
2	13.5	11.2	12.6	10.9	7
	21.3	15.1	23.2	14.3	
	51.6	24.6	22.5	13.2	
	24.0	15.0	38.3	18.8	
	60.0	22.8	30.0	15.7	
	34.5	18.8	20.5	13.5	
	26.0	17.0	33.6	18.3	
15.1	11.8	13.6	10.9		
3	12.7	10.7	14.4	10.9	8
	28.9	16.3	23.5	14.4	
	34.0	18.5	25.1	15.8	
	25.8	15.0	25.3	15.4	
	25.9	14.0	22.0	14.1	
	27.2	15.6	25.5	15.6	
	21.0	13.5	35.8	19.4	
14.6	10.9	13.8	11.6		
4	13.0	11.0	12.7	10.8	9
	39.4	20.0	17.8	13.4	
	29.6	17.0	24.9	15.1	
	25.5	15.3	51.5	22.8	
	17.9	12.0	36.0	20.1	
	30.0	17.2	71.5	27.0	
	25.0	15.7	21.5	14.2	
13.1	11.0	13.7	11.2		
5	12.9	10.8	12.5	11.2	10
	32.2	18.1	24.8	15.4	
	48.1	25.1	22.0	14.0	
	34.4	17.2	38.0	18.8	
	32.3	17.8	29.1	16.5	
	60.7	25.0	27.0	15.4	
	29.0	17.0	28.7	16.2	
13.5	11.0	12.3	11.4		

Tabla No. 10 Datos de TP obtenidos en el procedimiento de calibración del lote Z-2.

La calibración final con SIMPLASTIN EXCEL S fue:

Día	n	m	C <sub>PRT,b</sub>	ISI <sub>PRT,b</sub>	SE <sub>C<sub>PRT,b</sub></sub>	SE <sub>ISI,PRT</sub>	%CV <sub>ISI,PRT</sub>	SE <sub>ISI,b</sub>	%CV <sub>ISI,b</sub>
1	8	0.74	1.98	2.18	0.14	0.16	7.3	0.35	16.3
2	8	0.69	1.91	2.10	0.13	0.15	7.0	0.32	15.0
3	8	0.63	1.81	1.99	0.12	0.13	6.7	0.27	14.0
4	8	0.62	1.80	1.98	0.11	0.12	6.1	0.25	12.5
5	8	0.56	1.71	1.88	0.13	0.15	7.9	0.29	15.6
6	8	0.65	1.85	2.03	0.08	0.08	4.2	0.18	8.7
7	8	0.72	1.96	2.15	0.12	0.13	6.3	0.29	13.8
8	8	0.60	1.76	1.93	0.17	0.19	9.9	0.38	14.8
9	8	0.66	1.86	2.04	0.09	0.10	5.1	0.22	10.8
10	8	0.90	2.25	2.47	0.11	0.12	5.0	0.31	12.4
Σ: 10	80	0.67	1.87	2.06	0.05	0.06	2.7	0.12	5.8

Tabla No. 11 Parámetros obtenidos de la estandarización del lote Z-2.

A-2 Estandarización indirecta

Fue utilizado el THROMBOREL-S  
como material de referencia-  
en 10 días de trabajo

Día	Tiempos de protrombina				Día
	PRT	b	PRT	b	
1	10.9	10.8	10.8	11.0	6
	44.0	23.1	19.4	15.0	
	49.4	25.7	31.3	20.2	
	25.2	17.3	21.6	16.2	
	24.9	17.4	24.3	16.9	
	25.0	18.2	28.4	18.6	
	20.0	15.1	22.1	15.9	
	10.8	10.8	10.8	11.3	
2	11.1	11.2	10.8	10.9	7
	17.4	15.1	19.2	14.3	
	36.1	24.6	18.4	13.8	
	21.0	15.0	26.0	18.8	
	43.9	22.8	22.5	15.7	
	25.9	18.8	18.0	13.5	
	21.5	17.0	23.0	18.3	
	10.7	11.8	10.8	10.9	
3	10.7	10.7	10.8	10.9	8
	25.1	16.3	20.4	14.4	
	23.1	18.5	19.3	15.8	
	21.6	15.0	20.9	15.4	
	17.3	14.7	20.8	14.1	
	22.1	15.6	21.6	15.6	
	18.4	13.5	29.6	19.4	
	10.9	10.9	11.0	11.6	
4	10.8	11.0	11.0	10.8	9
	31.5	20.0	14.4	13.4	
	25.5	17.0	20.3	15.1	
	24.0	15.3	39.0	22.8	
	15.8	12.0	31.5	20.1	
	24.9	17.2	52.0	27.0	
	19.2	15.7	16.4	14.2	
	10.8	11.0	11.0	11.2	
5	10.7	10.8	10.8	11.2	10
	28.0	18.1	19.0	15.4	
	43.4	25.1	20.0	14.0	
	22.6	17.2	26.0	18.8	
	27.3	17.8	25.0	16.5	
	40.0	25.0	22.0	15.4	
	25.0	17.0	25.0	16.2	
	11.0	11.0	10.8	11.4	

Tabla No. 12. Datos de TP obtenidos en el procedimiento de calibración del lote Z-2.

La calibración final con THROMBOREL-S fue:

Día	n	m	CPRT,b	ISI <sub>PRT,b</sub>	SE <sub>CPRT,b</sub>	SE <sub>ISI,PRT</sub>	%CV <sub>ISI,PRT</sub>	SE <sub>ISI,b</sub>	%CV <sub>ISI,b</sub>
1	8	0.58	1.74	2.04	0.04	0.05	2.4	0.09	4.8
2	8	0.62	1.80	2.10	0.18	0.22	10.4	0.45	21.4
3	8	0.62	1.79	2.09	0.26	0.31	14.8	0.63	30.2
4	8	0.64	1.82	2.13	0.21	0.25	11.7	0.52	29.4
5	8	0.53	1.66	1.94	0.09	0.11	5.6	0.21	10.9
6	8	0.66	1.86	2.18	0.13	0.15	7.1	0.32	14.5
7	8	0.51	1.64	1.92	0.06	0.06	3.4	0.12	6.6
8	8	0.72	1.95	2.28	0.25	0.29	13.1	0.65	28.7
9	8	0.58	1.74	2.04	0.10	0.12	6.1	0.25	12.2
10	8	0.77	2.04	2.39	0.27	0.31	13.2	0.70	29.5
Σ 10	80	0.59	1.75	2.05	0.06	0.07	3.6	0.15	7.2

Tabla No. 13 Parámetros obtenidos de la estandarización del lote Z-2.

#### IV.2.2

##### Segunda calibración

En la segunda calibración se utilizó como tromboplastina de referencia el SIMPLASTIN EXCEL y nuevamente se calibró el lote Z-2, para determinar la reproducibilidad de la calibración y el lote Z-6 pues parecía ser una tromboplastina -- más sensible.

B-1 Estandarización indirecta

Fue utilizado el SIMPLASTIN EXCEL  
 como material de referencia, en -  
 10 días diferentes de trabajo

Día	Tiempos de protrombina				Día
	PRT	b	PRT	b	
1	11.3	10.7	11.3	11.3	6
	16.1	15.3	21.2	21.3	
	15.5	15.1	19.6	19.6	
	14.1	14.1	14.4	14.2	
	19.6	19.6	25.8	23.4	
	16.4	16.1	25.5	27.0	
	16.8	14.4	15.2	15.1	
	14.3	12.8	12.7	13.4	
2	10.9	10.7	11.8	11.4	7
	15.0	14.6	18.0	17.2	
	16.0	15.3	28.3	24.9	
	19.7	17.9	20.7	20.0	
	19.6	18.4	29.0	23.6	
	17.6	16.3	16.6	14.6	
	15.6	15.2	16.3	14.9	
	11.6	11.2	13.0	13.4	
3	11.0	11.5	11.4	11.3	8
	19.5	19.5	22.9	20.0	
	24.2	25.2	36.2	27.9	
	14.3	14.9	25.3	21.4	
	18.4	18.0	17.2	16.3	
	19.5	25.5	17.5	17.6	
	24.1	21.8	17.1	17.3	
	11.7	12.8	11.7	11.8	
4	11.0	11.6	11.3	11.3	9
	18.4	18.2	16.7	15.9	
	15.3	15.1	39.7	39.3	
	13.3	12.9	16.5	16.1	
	14.6	15.6	23.8	21.4	
	28.3	25.5	16.5	16.2	
	19.0	19.1	18.4	17.7	
	11.7	12.4	11.2	11.2	
5	11.4	11.3	11.9	11.7	10
	24.1	24.4	25.2	22.1	
	29.9	37.9	20.1	20.1	
	20.1	20.9	31.6	30.8	
	18.5	19.7	22.4	19.5	
	23.9	20.4	15.3	15.1	
	15.2	15.0	14.8	15.5	
	11.0	11.2	11.7	12.5	

Tabla No. 14 Datos de TP obtenidos en el procedimiento de calibración del lote Z-2.

La calibración final con SIMPLASTIN EXCEL fue:

Día	n	m	C <sub>PRT,b</sub>	ISI <sub>PRT,b</sub>	SE <sub>C<sub>PRT,b</sub></sub>	SE <sub>ISI,PRT</sub>	%CV <sub>ISI,PRT</sub>	SE <sub>ISI,b</sub>	%CV <sub>ISI,b</sub>
1	8	-0.09	0.91	1.75	0.12	0.24	13.55	0.32	18.3
2	8	0.09	1.09	2.08	0.07	0.14	6.70	0.16	7.8
3	8	0.02	1.02	1.94	0.15	0.29	15.20	0.42	21.6
4	8	0.15	1.16	2.22	0.06	0.12	5.40	0.18	8.2
5	8	-0.12	0.88	1.69	0.09	0.19	10.92	0.25	14.7
6	8	0.02	1.02	1.95	0.09	0.17	8.90	0.25	12.7
7	8	0.17	1.18	2.26	0.09	0.17	7.5	0.26	11.6
8	8	0.26	1.30	2.48	0.08	0.15	6.0	0.24	9.8
9	8	0.01	1.01	1.93	0.08	0.15	8.0	0.22	11.4
10	8	0.12	1.13	2.16	0.09	0.17	7.8	0.25	11.7
10	80	0.05	1.06	2.02	0.03	0.06	3.1	0.09	4.5

M  
-99-

Tabla No. 15 Parámetros obtenidos de la estandarización del lote Z-2

## B.2 Estandarización indirecta.

Fue utilizado el SIMPLASTIN EXCEL como material de referencia, en - 10 días diferentes de trabajo.

Día	Tiempos de protrombina				Día
	PRT	b	PRT	b	
1	11.3	12.1	11.3	12.7	6
	16.1	18.4	21.2	31.2	
	15.5	17.2	19.6	27.7	
	14.1	20.6	14.4	16.7	
	19.6	24.9	25.8	32.3	
	16.4	19.6	25.5	39.1	
	16.8	20.1	15.2	18.0	
	14.3	14.7	12.7	16.3	
2	10.9	11.6	11.8	14.5	7
	15.0	16.2	18.0	21.1	
	16.0	18.3	28.3	35.6	
	19.7	22.6	20.7	21.0	
	19.6	22.1	29.0	25.1	
	17.2	20.2	16.6	15.8	
	15.6	17.3	16.3	17.4	
	11.6	13.1	13.0	14.5	
3	11.0	13.0	11.4	13.0	8
	19.5	26.5	22.9	26.6	
	24.2	38.2	36.2	32.8	
	14.3	17.9	25.3	26.6	
	18.4	28.7	17.2	18.0	
	19.5	36.3	17.5	20.6	
	24.1	28.4	17.1	20.7	
	11.7	13.9	11.7	14.4	
4	11.0	13.1	11.3	12.9	9
	18.4	29.0	16.7	17.8	
	15.3	18.2	39.7	59.5	
	13.3	16.6	16.5	19.2	
	14.6	18.2	23.8	27.0	
	28.3	37.3	16.5	19.9	
	19.0	26.0	18.4	22.0	
	11.7	14.1	11.2	13.0	
5	11.4	13.0	11.9	12.3	10
	24.1	28.4	25.2	29.1	
	29.9	42.0	20.1	25.2	
	20.1	22.5	31.6	42.8	
	18.5	22.2	22.4	24.1	
	23.9	26.8	15.3	17.5	
	15.2	18.2	14.8	17.8	
	11.0	13.0	11.7	13.6	

Tabla No. 16 Datos de TP obtenidos en el procedimiento de calibración del lote Z-6.

La calibración final con SIMPLASTIN EXCEL fue:

Día	n	m	C <sub>PRT,b</sub>	ISI <sub>PRT,b</sub>	SE <sub>CPRT,b</sub>	SE <sub>ISI,PRT</sub>	%CV <sub>ISI,PRT</sub>	SE <sub>ISI,b</sub>	%CV <sub>ISI,b</sub>
1	8	-0.37	0.70	1.33	0.15	0.2	21.6%	0.35	26.0
2	8	-0.09	0.91	1.74	0.05	0.09	5.4	0.13	7.2
3	8	-0.34	0.71	1.37	0.11	0.22	16.0	0.26	19.5
4	8	-0.29	0.75	1.43	0.05	0.10	7.2	0.13	9.0
5	8	-0.10	0.90	1.73	0.06	0.12	7.0	0.16	9.4
6	8	-0.28	0.76	1.45	0.09	0.17	11.5	0.20	14.0
7	8	0.06	1.06	2.03	0.19	0.36	17.0	0.51	25.0
8	8	0.20	1.23	2.30	0.10	0.19	8.2	0.29	13.0
9	8	-0.18	0.84	1.60	0.05	0.09	6.0	0.12	7.6
10	8	-0.14	0.87	1.66	0.19	0.37	2.2	0.48	29.0
Σ 10	80	-0.14	0.86	1.66	0.03	0.07	4.2	0.09	5.5

Tabla No. 17 Parámetros obtenidos de la estandarización del lote Z-6.

## IV.2.3

Resultado global de la calibración

REFERENCIA	LOTE	N	m	$C_{PRT,b}$	ISI <sub>PRT</sub>	ISI <sub>PRT,b</sub>	$\%CV_{ISI,PRT}$	$\%CV_{ISI,b}$
Simplastin Excel S	Z <sub>2</sub>	80	0.67	1.87	1.1	2.05	2.7	5.8
Thrombol S			0.59	1.75	1.17	2.05	3.6	7.2
Simplastin Excel	Z <sub>2</sub>	80	0.056	1.06	1.91	2.02	3.1	4.5
	Z <sub>6</sub>	80	-0.14	0.86	1.91	1.66	4.2	5.5

Tabla No. 18 Parámetros finales de la calibración

### IV.3 Comparación Clínica

- a) El siguiente resultado muestra que no hay diferencia estadística entre el ISI del lote Z-2 y el SIMPLAS--  
TIN EXCEL.

Hipótesis

$$H_0 = \text{ISI PRT} = \text{ISI}_b \text{ (nula)}$$

$$H_a = \text{ISI PRT} \neq \text{ISI}_b \text{ (alternativa)}$$

$$\text{ISI}_{\text{PRT}} = 1.91$$

$$\bar{X}_{\text{ISI},b} = 2.02$$

$$s = 0.30$$

$$n = 10$$

$$t_{\text{calc}} = \frac{1.91 - 2.02}{0.30 / \sqrt{10}} = -1.15$$

$$t_{\text{tab}}^{1-0.05} = 1.86$$

$$|t_{\text{calc}}| < t_{\text{tab}}$$

No se rechaza  $H_0$ , los ISI son iguales.

- b) En las siguientes tablas se muestra el comportamiento de las dos tromboplastinas en los diferentes casos clínicos.

No.	PRT		b		DIFERENCIA RIN <sub>PRT</sub> -RIN <sub>b</sub>	CALCULOS
	RP	RIN	RP	RIN		
1	2.09	2.37	1.70	2.92	-0.55	Hipótesis $H_0 = RIN_{PRT} - RIN_b = 0$ $H_a = RIN_{PRT} - RIN_b \neq 0$ $\bar{X}_{DIF} = -0.115$ $s = 0.38$ $n = 20$  $t_{calc} = \frac{0 - (-0.115)}{0.38/\sqrt{20}} = 1.35$  $t_{tab}^{0.95} = 1.7341$  $ t_{calc}  < t_{tab}$  No se rechaza $H_0$ , los RIN son iguales
2	1.52	1.63	1.39	1.94	-0.31	
3	1.79	1.98	1.48	2.21	-0.23	
4	2.02	2.28	1.58	2.52	-0.24	
5	2.27	2.60	1.67	2.81	-0.21	
6	2.35	2.72	1.67	2.81	-0.09	
7	1.40	1.48	1.27	1.62	-0.14	
8	2.15	2.45	1.40	1.97	0.48	
9	2.16	2.46	1.37	1.89	0.57	
10	2.09	2.37	1.58	2.52	-0.15	
11	2.18	2.49	1.67	2.81	-0.32	
12	1.88	2.10	1.58	2.52	-0.42	
13	1.41	1.49	1.52	2.33	-0.84	
14	3.57	4.43	2.23	5.05	-0.62	
15	2.12	2.40	1.38	1.92	0.48	
16	1.74	1.91	1.49	2.24	-0.33	
17	2.03	2.29	1.48	2.20	0.09	
18	1.96	2.20	1.38	1.92	0.28	
19	1.51	1.62	1.28	1.64	-0.02	
20	1.95	2.18	1.38	1.92	0.26	

Tabla No. 19 Datos de valvulopatías en la comparación.

No.	PRT		b		DIFERENCIA RIN <sub>PRT</sub> - RIN <sub>b</sub>	CALCULOS
	RP	RIN	RP	RIN		
1	3.52	4.36	1.75	3.09	1.27	Hipótesis $H_0 = RIN_{PRT} - RIN_b = 0$ $H_a = RIN_{PRT} - RIN_b \neq 0$ $\bar{X}_{DIF} = 0.2225$ $s = 1.17$ $n = 20$ $t_{calc} = \frac{0 - 0.2225}{1.17 / \sqrt{20}} = -0.85$ $t_{tab}^{0.95}_{18} = 1.7341$ $ t_{calc}  < t_{tab}$  No se rechaza $H_0$ , los RIN son iguales
2	3.79	4.75	1.83	3.39	1.36	
3	3.98	5.03	1.91	3.69	1.34	
4	3.62	4.51	1.96	3.89	0.62	
5	2.24	2.56	1.68	2.85	-0.29	
6	2.73	3.23	1.51	2.29	0.94	
7	1.60	1.73	1.32	1.75	-0.02	
8	2.03	2.29	1.63	2.68	-0.39	
9	2.15	2.45	1.54	2.39	0.06	
10	1.81	2.00	1.43	2.06	-0.06	
11	3.61	4.50	1.91	3.70	0.08	
12	2.04	2.30	1.40	1.97	0.33	
13	5.04	6.63	3.22	10.61	-3.98	
14	1.94	2.17	1.48	2.20	-0.03	
15	4.24	5.42	2.02	4.14	1.28	
16	3.72	4.65	1.75	3.09	1.56	
17	3.60	4.47	1.93	3.77	0.70	
18	1.60	1.73	1.34	1.80	-0.07	
19	2.24	2.60	1.67	2.81	-0.21	
20	1.80	1.99	1.42	2.03	-0.04	

Tabla No. 20. Datos de tromboflebitis en la comparación

No.	PRT		b		DIFERENCIA ACT <sub>PRT</sub> -ACT <sub>b</sub>	CALCULOS
	T SEG	% ACT	T SEG	% ACT		
1	20.8	34.2	15.0	39.3	-5.1	Hipótesis $H_0 = \%ACT_{PRT} - \%ACT_b = 0$ $H_a = \%ACT_{PRT} - \%ACT_b \neq 0$ $\bar{X}_{DIF} = 3.14$ $s = 7.46$ $n = 20$  $t_{calc} = \frac{0 - 3.14}{7.46/\sqrt{20}} = -1.88$  $t_{tab, 18}^{0.95} = 1.7541$  $ t_{calc}  > t_{tab}$  Se rechaza $H_0$ , los % de actividad son diferentes
2	20.1	36.0	15.5	37.0	-1.0	
3	14.2	62.4	12.7	58.2	4.2	
4	33.8	18.2	20.5	22.0	-3.8	
5	29.6	21.4	18.4	26.5	-5.1	
6	18.0	42.4	14.5	42.2	0.2	
7	15.1	56.0	15.3	37.7	18.3	
8	33.9	18.1	20.0	22.9	-4.8	
9	28.4	22.6	17.8	28.1	-5.5	
10	17.0	46.3	15.0	39.3	7.0	
11	16.2	50.0	14.7	41.1	8.9	
12	17.0	46.3	15.8	35.3	11.0	
13	16.6	48.1	15.7	35.7	12.8	
14	16.0	51.0	14.7	41.0	10.0	
15	35.7	17.0	21.1	21.0	-4.0	
16	34.1	18.0	20.3	22.4	-4.4	
17	20.5	35.0	15.7	36.0	-1.0	
18	18.3	41.2	15.6	36.3	4.9	
19	16.2	50.0	14.7	41.0	9.0	
20	17.1	46.0	15.1	34.7	11.3	

Tabla No. 21. Datos de Ictericia obstructiva en la comparación.

No.	PRT		b		DIFERENCIA ACT <sub>PRT</sub> -ACT <sub>b</sub>	CALCULOS
	T SEG	% ACT	T SEG	% ACT		
1	19.9	36.5	15	39.3	-2.8	Hipótesis $H_0 = \%ACT_{PRT} - \%ACT_b = 0$ $H_a = \%ACT_{PRT} - \%ACT_b \neq 0$ $\bar{x}_{DIF} = 3.43$ $s = 5.54$ $n = 20.0$  $t_{calc} = \frac{0 - 3.43}{5.54 / \sqrt{20}} = -2.76$  $t_{tab}^{0.95}_{18} = 1.7341$  $ t_{calc}  > t_{tab}$  Se rechaza $H_0$ , los % de actividad son diferentes
2	16.9	46.6	13.7	48.7	-2.1	
3	18.1	41.9	15.5	36.7	5.2	
4	20.3	35.5	14.7	41.1	-5.6	
5	16.3	49.2	16.1	34.2	15.0	
6	22.5	30.8	17.2	29.9	0.9	
7	19.0	39.0	15.8	35.3	3.7	
8	18.5	40.7	15.0	39.3	1.4	
9	14.7	58.3	13.8	47.6	10.7	
10	31.7	19.7	20.5	22.1	-2.4	
11	24.8	27.0	18.7	25.8	1.2	
12	17.2	45.5	16.0	35.0	10.5	
13	18.6	40.2	15.1	39.0	1.2	
14	22.0	31.7	19.0	25.0	6.7	
15	28.0	23.0	23.4	17.9	5.1	
16	17.0	46.3	14.5	42.2	4.1	
17	16.7	47.6	15.1	34.8	12.8	
18	22.0	31.7	18.0	27.5	4.2	
19	23.0	30.0	17.5	29.1	0.9	
20	20.1	36.0	15.3	38.0	-2.0	

Tabla No. 22 Datos de CHAN en la comparación

## V. ANALISIS DE RESULTADOS

El presente trabajo se dividió en tres partes:

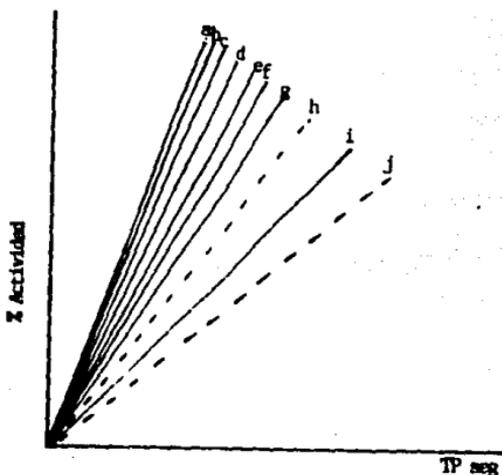
- A) Preparación de Tromboplastinas con diferente sensibilidad.
- B) Calibración de tromboplastinas.
- C) Comparación clínica de tromboplastinas.

Cada tromboplastina preparada va a tener diferente sensibilidad, lo cual depende de muchos factores, tales como: - pureza de la acetona, eliminación completa de vasos sanguíneos y meninges, grado y tiempo de maceración, tipo de agua-utilizada (destilada o desionizada), pH de la solución salina, tiempo y temperatura de incubación y almacenamiento de la muestra.

Controlando todos los factores antes mencionados y variando solamente el tiempo de maceración se obtuvieron 25 lotes de tromboplastinas con una variación, entre ellas, de 0.3 a 0.5 segundos en la media de su cien % de actividad. De los 25 lotes solamente se eligieron 6 de ellos con una media de cien % de actividad, para cada uno de ellos de 10.6 (Z-1) 11.1 (Z-2), 11.5 (Z-3), 12.0 (Z-4), 12.4 (Z-5) y 13.2 (Z-6), lográndose una diferencia entre ellas de  $0.5 \pm 0.2$  segundos.

A cada lote de tromboplastina (Z-1 a Z-6), además de las de referencia Simplastin Excel (SIM-E) y Thromborel S (T-S), se les construyó su curva de referencia (% de Quick), como se observa de manera resumida en la Tabla No. 9.

En las curvas de referencia hay tromboplastinas con sensibilidad baja, lote Z-1 y de sensibilidad mayor, lote Z-6, siendo el segundo lote más sensible que la referencia de SIM-E, pero aún siendo todas éstas de sensibilidad menor si se comparan con T-S y las preparaciones internacionales de referencia RBT/79 (cerebro de conejo) y BCT/253 o 67/40 (cerebro humano), como se muestra en la siguiente gráfica.



- a) Z-1
- b) Z-2
- c) SIM-EXCEL
- d) Z-3
- e) Z-4
- f) Z-5
- g) Z-6
- h) RBT/79
- i) T-5
- j) BCT/253 o 67/40

A medida que disminuye el ángulo de inclinación con respecto al eje de las abscisas, la sensibilidad aumenta, como - en el caso de las preparaciones internacionales de referencia, si el ángulo tiende a aumentar, su sensibilidad disminuirá (línea i a línea a).

Con base en lo anterior se construyó la Tabla No. 9 - con % de actividad y tiempo en segundos, de las diferentes - tromboplastinas, para cuando se prepare un lote con cual- - - - - quier sensibilidad, se le pueda comparar con los datos de la curva de referencia que más se le parezca, ya que estos datos son de una media de valores obtenidos en 5 días diferentes de trabajo.

Haciendo una comparación de los lotes experimentales, - con base en las curvas de referencia, se eligió el lote Z-2, para ser calibrado, por poseer una curva de referencia muy - similar a la de SIM-E (de cerebro de conejo) y el lote Z-6, - que resultó ser el lote experimental que tuvo mayor sensibilidad que la referencia de SIM-E, pero menor que T-S (placen

ta humana), que resultó ser la tromboplastina más sensible.

Primeramente se calibró el lote Z-2 con dos tromboplastinas diferentes (SIM-E y T-S) para elegir la mejor referencia de calibración. Obteniéndose para el lote Z-2, un ISI de 2.06 con SIM-E S y de 2.05 con T-S, el ISI obtenido en ambas calibraciones fue muy similar, variando solamente en 0.01 - unidades, en ambos casos el ISI obtenido fue menor al máximo permitido por la OMS ( $\leq 2.5$ ). Sin embargo el % de CV del ISI b (% CV) fue menor con SIM-E S (5.8%) que con T-S (7.2%), -- eligiéndose por lo tanto a SIM-E S como el mejor material de referencia para una segunda calibración. Aunque fue elegido el SIM-E S como el mejor material de referencia, su % de CV fue mayor al permitido por la OMS ( $< 3\%$ ) pero que puede ser aceptable si es menor a un 5%.

En la segunda calibración se utilizaron 2 lotes (el Z-2 y Z-6).

El lote Z-2 se calibró nuevamente por dos razones; una de ellas era para observar si existía reproducibilidad en la calibración utilizando el mismo material de referencia que en la primera calibración (SIM-E) y la segunda para poder -- disminuir el valor de % de CV, al obtenido en la primera calibración.

El lote Z-6 se calibró para comprobar si efectivamente era un lote de mayor sensibilidad (al determinar el ISI) que el SIM-E.

El ISI obtenido para el lote Z-2 fue de 2.02, siendo menor que el obtenido en la primera calibración (2.06), con -- una diferencia de 0.04 unidades. De las dos calibraciones -- realizadas para determinar el ISI del lote Z-2, el de la segunda calibración fue el elegido, ya que su % de CV fue de -- 4.5% menor al obtenido en la primera calibración (5.8%) y menor al máximo permitido por la OMS (5.0%). Esta disminución del % de CV fue gracias a que en esta segunda calibración se manejaron plasmas con más variedad en el grado de anticoagulación, además de que se tuvo más cuidado en la realización de esta calibración.

En la calibración del lote Z-6 se le determinó un ISI -

de 1.66, siendo menor al de la preparación de referencia -- SIM-E de 1.91, reafirmando lo dicho a partir de las curvas de referencia, que este lote era el más sensible de los lotes experimentales, siendo también más sensible que la de referencia de SIM-E. El % de CV fue de 5.5% ligeramente mayor al permitido.

Como inicialmente se pensó que el lote Z-2 era muy parecido a la referencia de SIM-E, con el mismo ISI, se comprobó si existía diferencia estadística entre el ISI del SIM-E y el ISI del Z-2, aplicando  $t$  de student. Del cálculo realizado y basándose en las hipótesis propuestas ( $H_0$  y  $H_a$ ) no se rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ) siendo los ISI iguales y las diferencias de ISI entre los dos lotes son debidas al error experimental.

Todo lo anterior fue para utilizar con confianza el lote Z-2 en la comparación clínica.

En la comparación clínica de los diferentes padecimientos se utilizó el lote Z-2 (lote a comparar) con un ISI de 2.02 y el T-S (lote de referencia) con un ISI de 1.17, y para comprobar si existía diferencia estadística entre las determinaciones de los TP medidos por ambos lotes se utilizó la distribución  $t$ .

En la comparación clínica de Tromboflebitis y Valvulopatías, no se rechazó  $H_0$ , utiliznado como parámetro de comparación el RIN, resultando que no había diferencia entre el RIN, determinado para cada paciente, por las dos tromboplastinas y que las diferencias eran debidas al error experimental. Este resultado obtenido reafirma el conocimiento que ya se tiene del RIN que es una escala universal, para pacientes que estan recibiendo tratamiento con anticoagulantes orales, siempre y cuando se trabaje con tromboplastinas calibradas - (valor de ISI asignado).

Si se obtuvieron los resultados de estos pacientes en Radio de Protrombina (RP) no hay una homogeneidad entre los datos del mismo paciente, pero que al elevar el RP a la ISI (RPISI) se obtiene un valor de RIN equivalente para cada paciente.

Para tromboplastinas con baja sensibilidad (ISI alto) - el RP es bajo y para tromboplastinas con alta sensibilidad - (ISI bajo) el RP es alto.

En los padecimientos de CHAN e Ictericia Obstructiva, - se utilizó como parámetro de comparación el % de actividad, - se rechazó Ho por lo que los % de actividad para cada paciente, determinado por las dos tromboplastinas, son diferentes. Esta diferencia es debida a que aún no se ha encontrado una-escala universal para reportar el TP de este tipo de pacientes, que no se les administran anticoagulantes orales, siendo la forma más común de reportar el TP en tiempo en segundos (con control) o en % de actividad, basado en la curva de referencia la cual esta sujeta a muchas variantes. Por lo -- que mientras no se proponga una escala universal para reportar el TP en este tipo de pacientes, se tendrán que cuidar - todas aquellas variantes que afecten la realización de la -- curva de referencia.

El TP de los pacientes, que son atendidos en el HGZ # - 53 (IMSS) los Reyes, con Valvulopatías y Tromboflebitis no - muestran un valor óptimo en términos de RIN (basándose en -- las tablas 5,6,7 y 8), ya que para cada padecimiento existe- un rango de anticoagulación, siendo en la mayoría de los casos valores bajos de RIN y algunos elevados, Esto es debido- a que aún en este hospital no se ha adoptado como escala universal el RIN para el control de pacientes anticoagulados, - lo cual es muy importante que se adopte para llevar un mejor control de este tipo de pacientes.

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

## VI. CONCLUSIONES

Se obtuvieron lotes con diferente sensibilidad (Z-1 a Z-6), uno de ellos (Z-2) con la misma sensibilidad que la tromboplastina de referencia (SIM-E) y un lote de mayor sensibilidad (Z-6), con base en la curva de referencia.

De la calibración para el lote Z-2 el ISI elegido fue el obtenido en la segunda calibración, de 2.02 (menor al permitido por la OMS  $< 2.5$ ) con un % de CV aceptable de 4.5% (siendo también menor al máximo permitido 5%), parecería mejor si fuera menor a 3%. De los resultados obtenidos para el lote Z-2 y haciendo la comparación bibliográfica, se puede decir que este lote producido en la ENEP Zaragoza es muy parecido al producto comercial de importación SIM-E de Organon Teknika. Esta casa comercial actualmente produce lotes de mayor sensibilidad que el SIM-E (ISI = 1.91) como el SIM-E S (ISI = 1.1). En la ENEP Zaragoza se produjo el lote Z-6 (ISI = 1.66) que resultó ser más sensible que el primero, por lo que el objetivo es seguir produciendo lotes con la misma sensibilidad del lote Z-6 y con mayor sensibilidad, pero con un % de CV bajo ( $< 3\%$ ), que se parezcan a la PIR secundaria.

Como las calibraciones realizadas fueron de manera indirecta con tromboplastinas de referencia terciarias (comerciales SIM-E y T-S), el siguiente objetivo es realizar la calibración de manera directa con la PIR secundaria (RBT/79), para corroborar los resultados obtenidos.

El resultado de la calibración se vio reflejado al momento de la comparación clínica en los padecimientos de Tromboflebitis y Valvulopatías (padecimientos donde se administran anticoagulantes orales), donde el parámetro de comparación fue el RIN (RP<sup>ISI</sup>), resultando el mismo valor de RIN por ambas tromboplastinas (lote Z-2 y T-S) y que las diferencias presentadas eran debidas al error experimental (tiempo de incubación de reactivos, volúmenes de plasma y tromboplastinas utilizadas, limpieza del material, etc).

En los padecimientos de CHAN e Ictericia Obstructiva,-

el parámetro de comparación utilizado fue el % de actividad, resultando que los porcentajes obtenidos para cada paciente, eran diferentes, medidos por las dos tromboplastinas (lote - Z-2 y T-S).

Con la calibración de tromboplastinas, el TP de pacientes que reciben anticoagulantes orales deberán reportarse en RIN, el cual toma en cuenta las diferentes sensibilidades de las diferentes tromboplastinas a los efectos de los anticoagulantes orales, puesto que proporciona un simple medio de obtención de una medida universal -una que tiene el mismo -- significado en todo el mundo- independientemente de la fuente de tromboplastina, facilitando el control de este tipo de pacientes.

En los padecimientos donde no se administren anticoagulantes orales en Tiempo en segundos (con control), Porcentaje de Actividad (con base en la curva de referencia) o en  $R_a$  dio de Protrombina (RP), mientras no se proponga una escala-universal.

Por todo lo anterior se puede continuar con la fabricación de este reactivo, puesto que se determinó que el ISI de la tromboplastina es aceptable y que su comportamiento en -- los diferentes padecimientos (analizados en este trabajo) es homogéneo, y a corto plazo producir el reactivo de acuerdo a la infraestructura de la ENEP Zaragoza.

Ya que la política de la escuela es seguir produciendo-reactivos que sean: de buena calidad, de bajo costo y que -- puedan competir con el producto importado.

## REFERENCIAS

1. Mazza J. Manual of clinical hematology. Boston: Editorial-Little Brown and Company, 1988: 288-298.
2. Erlsev A. Pathophysiology of blood. 3a. Ed. Oxford: Editorial Saunders, 1985: 212-231.
3. Williams J. Hematología. 2a. Ed. México D.F: Editorial - Salvat, 1983: 120.
4. Cabrera J, Regidor M, Barbolla A y col. Coagulopatías de hiperconcnomo: Medicine. México 1985 septiembre 9: 144-162.
5. Escriba A, Malvenda M. Fisiología de la hemostasia: Medicine. México 1982 Abril 7: 60-90.
6. Chesterman C, Coagulación intravascular diseminada y cuadros relacionados: Medicine. México 1982 Abril 7: 91-97.
7. Goodman G, Goodman L, Rall T. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 7a. Ed. México D.F: Editorial Panamericana, - 1986: 1273-1283.
8. Bloon A. Hemostasis and trombosis. Edinburch: Editorial - Churchill Livingstone, 1981: 540-544.
9. Rifkind R. Hematología clínica. 3a. Ed. México D.F: Editorial Interamericana, 1988: 215-220.
10. Owens M, Cimino C. A plasma factor activity of vitamin K--dependent coagulation proteins. Thromb Haemostas 1983; --- 50(1): 749-752.
11. Girolani A. About de cost of opposing the coumarin-inhibitor theory-reply. Thromb Haemostas 1983; 49(1): 247-248.
12. Quick A. The role of vitamins in hemostasis, Thromb Diath-Haemorrh 1975; 33: 191-198.
13. WHO Expert Committee on Biological Standardization; 33th--Tech Rep Ser 687. WHO. Geneva. 1983.
14. WHO Expert Committee on Biological Standardization; 34th--Tech Rep Ser 700. WHO. Geneva. 1984.
15. Taberner DA, Poller L, Thomson JM, y col. Effect of international sensitivity index (ISI) of thromboplastins on - precision of international normalised ratio (RIN). J Clin-Pathol 1989; 42(10): 1118-1119.

16. Kaham J, Norel I. Assesment of different mathematical - models for coagulation and expresing the results of coa-- gulation test procedures. *Thromb Diath Haemorrh*, 1975; - 34: 522.
17. Loeliger EA, Brockmans A. Optimal therapeutic anticoagu-- lation. *Haemostasis* 1985; 15: 283-292.
18. Scholman S, Lockner D. Relation ship bettween thromboembo- lic complication and intensity of treatment during long - term prophylaxis whith oral anticoagulants with oral anti- coagulants following DVT. *Thromb Haemostas*. 1985; 53: -- 137-140.
19. Van Dijk-Wierda CA, Loeliger EA, Meilof J. Anticoagulant- control in the Netherlands. *Lancet*, 1981: 1321.
20. Alderson MR, Poller L, Thomson JM. Validity of the bri--- tish system for anticoagulant control using the national- reagent. *J Clin Pathol*, 1970; 23: 281-285.
21. Bargham DR, Biggs R, Denson KWE, y col. Calibration of five different thromboplastins using fresh and freeze dried plasma. *Thromb Diath Haemorrh*, 1973; 29(2): 228-239.
22. Hosagawa H, Nagata H, Murao M. Studies on the tissue ---- thromboplastin during the coagulation-fibrinolytic pro--- cess- ultrastructural changes. *Thromb Haemostas*, 1977: - 37: 541.
23. Loeliger EA, Van Halem-Viser LP, A simplified thromboplas- tin calibration procedure for standardization of anticoa-- gulant control. *Thromb Diath Haemorrh*, 1975; 33: 173-190.
24. Owren PA. Criteria for an acceptable thromboplastin prepa-- ration. *Thromb Diath Haemorrh*, 1975; 33: 165-171.
25. Miale J, Kent J. Standardization of the therapeutic range- for oral anticoagulants based on standard reference plas- mas. *Amer J Clin Pathol*, 1972; 57: 80-88.
26. Brozovik M, Howarth D, Van Halem-Visser, y col. Stability- of freeze dried plasma prepared from patients on oral --- anticoagulants. *J Clin Pathol*, 1973; 26: 857-863.
27. Poller L. The british system for anticoagulant control. -- *Thromb Diath Haemorrh*, 1975; 33: 157-162.
28. Miale JB, Loeliger EA. Reference plasmas in the laboratory control of oral anticoagulants. *Thromb Diath Haemorrh*, -- 1975; 33: 163-164.
29. Ingram G. Symposium standarizing the control of oral anti- coagulant treatment. *Thromb Diath Haemorrh*, 1975; 33: 142- 147.

30. Loeliger EA. Performance characteristics of reference --- thromboplastins. Amer J Clin Pathol. 1974; 62: 574-575.
31. Biggs R. Forty years of the one-stage prothrombin time. -- Thromb Diath Haemorrh, 1975; 33: 139-141.
32. Bockhost M, Petronella J, Hermans J. Prospective double - blind clinical trial of bovine, human and rabbit thromboplastins in monitoring long-term oral anticoagulation. --- Amer J Clin Pathol, 1981; 75: 297-303.
33. Van Dux-Wierda CA, Hermans J, Loeliger EA. Interlaboratory oral anticoagulant quality assesment by the Netherlands federation of trombosis servises. Thromb Haemostas, 1977; 37: 509-522.
34. Korsan K, Jorsen M, Pehrson NC. Comparison between british comparative thromboplastin (BCT) and a factor II-VII-X determination method (Simplastin A) based on fresh plasma -- samples from dicoumarol-treated patients. Thromb Haemostas, 1977; 37: 98-103.
35. Hermans J, Van den Basselaar AMHP, Loeliger EA, y col. A - collaborative calibration study of reference materials for thromboplastins. Thromb Haemostas, 1983; 30(3): 712-717.
36. Loeliger EA. Thromboplastin calibration. Thromb Haemostas. 1977; 37: 588-589.
37. Kirwood TBL. Calibration of reference thromboplastins and standardisation of the prothrombin time ratio. Thromb Haemostas, 1983; 49(3): 247-248.
38. Loeliger EA, Van der Horf. Thromboplastin calibration. - Thromb Haemostas, 1978: 40: 272-287.
39. Loeliger EA, Poller L, Samma M, y col. Questions and answers on prothrombin time standardisation in oral anticoagulant control. Thromb Haemostas, 1985; 54(2): 515-517.
40. Gogstard GO, Wadt J, Smith A, y col. Utility of a modified calibration model for reliable conversion of thromboplastin times to international normalized ratios. Thromb Haemostas, 1986; 56(2): 178-182.
41. Van den Basselaar AMHP, Bruce L, Donna R, y col. Proficiency testing and standarization of prothrombin time --- effect of thromboplastin instrumentation, and plasma. - Clin Lab Haemat, 1981; 3: 331-342.
42. Poller L, Path F. Laboratory control of anticoagulant therapy. Sem Thromb Haemostas, 1986; 12(1): 13-19.

43. Poller L. RIN and the therapeutic range. Biol Clin Haematol, 1987; 9: 203-213.
44. Peters RHM, Van den Besselaar AMHP, Olthius FMFG. A multi-centre study to evaluate method dependency of the international sensitivity index of the bovine thromboplastin. Thromb Haemostas, 1989; 61(1): 166-169.
45. Loeliger EA, Van den Besselaar AMHP, Lewis SM, Reliability and clinical impact of the normalization of the prothrombin times in oral anticoagulant control. Thromb Haemostas 1984; 51(1): 148-154.
46. Hirsh J, Levine M. Confusion over the therapeutic range for monitoring oral anticoagulant therapy in north america. Thromb Haemostas, 1988; 59(2): 129-132.
47. Poller L. A simplified nomogram for the derivation of international normalised ratios for the standardisation of prothrombin times. Thromb Haemostas, 1988; 60(1): 18-20.
48. Polareti G. Oral anticoagulant therapy control: Evidence that RIN expression improves the inter-laboratory comparability of results- The bologna oral anticoagulant control-exercise. Thromb Haemostas. 1987; 58(4): 905-910.
49. Loeliger EA. Laboratory control optimal therapeutic range and therapeutic quality control in oral anticoagulation. Acta Haemat, 1985; 72: 125-131.
50. Poller L. Therapeutic ranges in anticoagulant administration. Br Med J, 1985; 290: 1683-1686.
51. Loeliger EA, Hersen A, Kroes F. A double-blind of long term anticoagulant treatment after myocardial infarction. Acta Med Scand, 1967; 182: 549-566.
52. Koepke JA. Automated coagulation systems. Clin Lab Haematol, 1979; 1: 75-78.
53. Van den Besselaar AMHP, Van Halem-Visser, y col. The use of evacuated tubes for blood collection in oral anticoagulant control. Thromb Haemostas, 1983; 50(3): 676-677.
54. Neville E, Savory J. The influence of residual factor VII on the sensitivity of brain thromboplastin. Thromb Haemostas, 1978; 39: 592-599.
55. Abe A. The choice of water for coagulation test. Thromb Haemostas, 1977; 37: 570-571.
56. Wayne D. Bioestadística. México D.F: Editorial Limusa, 1983.

57. Chou Ya-Lung. Análisis estadístico. 2a. Ed. México D.F: -  
Editorial Interamericana, 1977.

## APENDICE

### A. RADIO INTERNACIONAL NORMALIZADO (RIN)

El Radio Internacional Normalizado (RIN) proporciona -- una escala estandarizada para la monitorización de los pa-  
cientes que están bajo una terapia anticoagulante oral. -  
El RIN es, efectivamente el índice TP obtenido a partir -  
de la Preparación Internacional de Referencia (PIR) de la  
Organización Mundial de la Salud (OMS). Este RIN se calcu-  
la utilizando el Índice de Sensibilidad Internacional --  
(ISI) establecido por el fabricante de cada lote de reacti-  
vo de tromboplastina utilizando un instrumento específi-  
co.

El cual se calcula de la siguiente forma:

$$RP = \frac{TP \text{ del paciente}}{TP \text{ normal } (\bar{x})}$$

$$RIN = RP^{ISI}$$

o

$$RIN = \text{antilog} (ISI \log RP)$$

El RIN también se puede obtener, utilizando el Radio de  
Protrombina (RP) y el valor ISI asignado al lote de Reacti-  
vo de Tromboplastina empleado en la prueba a partir de-  
la tabla de conversión adjunta.

INDICE DE SENSIBILIDAD INTERNACIONAL (ISI)

RADIO DE PROTROMBINA

	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
11	11	11	11	11	11	12	12	12	12	12	12	12	12	12	13	13	13	13	13	13	13
12	12	12	12	13	13	13	13	14	14	14	14	14	15	15	15	15	16	16	16	17	17
13	13	13	14	14	14	15	15	15	16	16	17	17	18	18	19	19	20	20	21	21	22
14	14	14	15	15	16	17	17	18	18	19	20	20	21	22	22	23	24	25	26	27	27
15	15	16	16	17	18	18	19	20	21	22	23	24	25	26	26	28	29	30	31	32	34
16	16	17	18	18	19	20	21	22	23	24	26	27	28	29	31	32	34	35	37	39	41
17	17	18	19	20	21	22	23	25	26	27	29	30	32	34	36	38	40	42	44	47	49
18	18	19	20	21	23	24	26	27	29	31	32	34	36	39	41	43	46	49	52	55	58
19	19	20	22	23	25	26	28	30	32	34	36	38	41	44	47	50	53	57	60		
20	20	21	23	25	26	28	30	32	35	37	40	43	46	49	53	57					
21	21	23	24	26	28	30	33	35	38	41	44	47	51	55	59						
22	22	24	26	28	30	33	35	38	41	45	48	52	57								
23	23	25	27	30	32	35	38	41	45	49	53	57									
24	24	26	29	31	34	37	41	44	48	53	58										
25	25	27	30	33	36	40	43	47	52	57											
26	26	29	31	35	38	42	46	51	56												
27	27	30	33	36	40	44	49	54	60												
28	28	31	34	38	42	47	52	58													
29	29	32	36	40	44	49	55														
30	30	33	37	41	47	52	58														
31	31	35	39	44	49	55															
32	32	36	40	45	51	57															
33	33	37	42	47	53	60															
34	34	38	43	49	55																
35	35	40	45	51	58																
36	36	41	47	53	60																
37	37	42	48	55																	
38	38	43	50	57																	
39	39	45	51	59																	
40	40	46	53																		
41	41	47	54																		
42	42	48	56																		
43	43	50	58																		
44	44	51	59																		
45	45	52																			
46	46	53																			
47	47	55																			
48	48	56																			
49	49	57																			
50	50	59																			

Tabla No. 23 Tabla para la Conversión del Radio de Protrombina en Radio Internacional Normalizado (RIN).