





Sección 1:

Impacto de la fase preanalítica en la calidad de los resultados de hemostasia.

Sección 2: Discusión de casos clínicos

Dra. Leonor Álvarez

BLC. Especialista en Hemostasia Con mas de 30 años de experiencia en U. de Antioquia y el Laboratorio Médico las Américas

Hemostasia secundaria

Dra. Gloria Ramos

BLC esp. Hemostasia, epidemiología y docencia universitaria. 28 años de experiencia en hemostasia. Directora científica de H&H Lab. Laboratorio de Referencia en Hemostasia y Hematología SAS.

Hemostasia primaria

Mercedes Alcalá

BLC U. Valle, Esp. en administración en salud y docencia Universitaria, Magister en educación médica. 7 años de experiencia en Hemostasia Fundación Valle de Lili

Estados hipercoagulables









Agregación plaquetaria, interpretación y recomendaciones

Gloria Ramos Ramos
Bacteriologa UCMC
Esp. en Hemostasia
Epidemióloga u. Rosario
Esp.en docencia universitaria UMNG
Docente U. Nacional
Directora Científica H&H lab.
Consultora externa de hemostasia
Líder del comité científico de Hemostasia
Latam
Vicepresidenta del grupo CLAHT
2023









Guideline Article - Consensus based

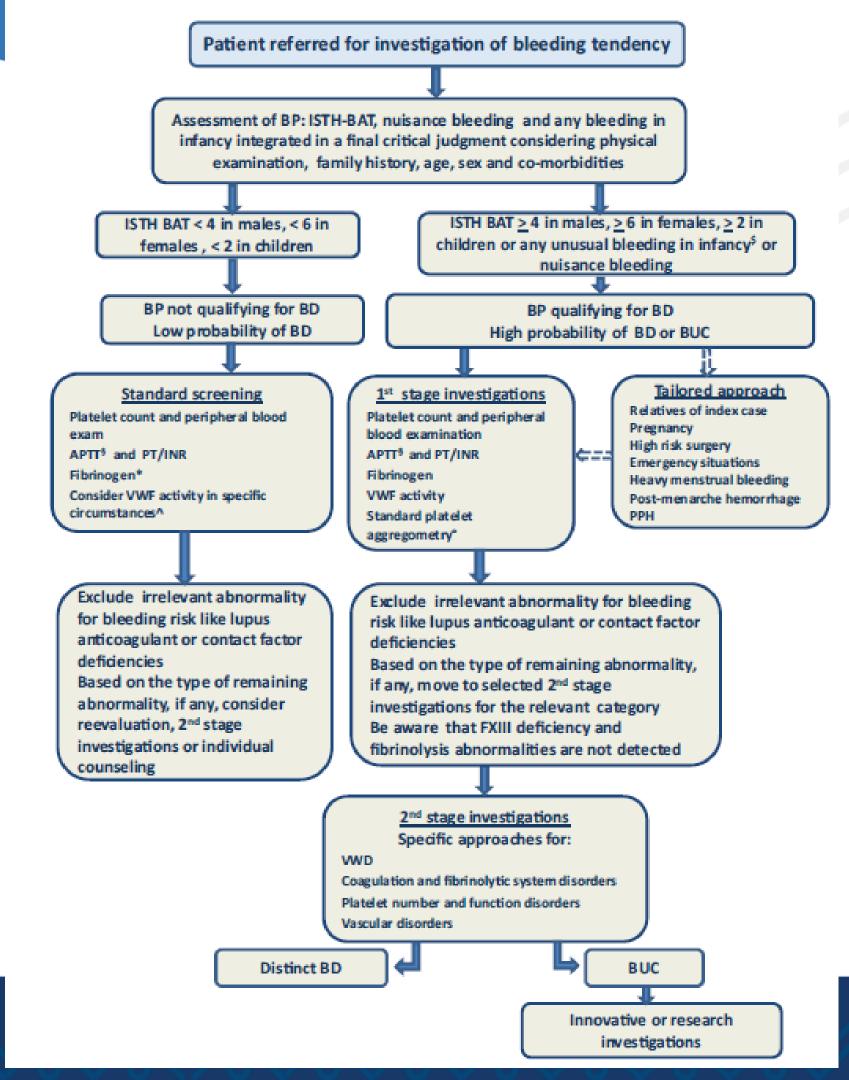
OPEN ACCESS

Fundamentals for a Systematic Approach to Mild and Moderate Inherited Bleeding Disorders: An EHA Consensus Report

Francesco Rodeghiero¹, Ingrid Pabinger², Margaret Ragni³, Rezan Abdul-Kadir⁴, Erik Berntorp⁵, Victor Blanchette⁶, Imre Bodó⁷, Alessandro Casini⁸, Paolo Gresele⁹, Riitta Lassila¹⁰, Frank Leebeek¹¹, David Lillicrap¹². Diego Mezzano¹³. Patrizia Noris¹⁴. Alok Srivastava¹⁵. Alberto Tosetto¹⁶. Jerzy Windyga¹⁷.

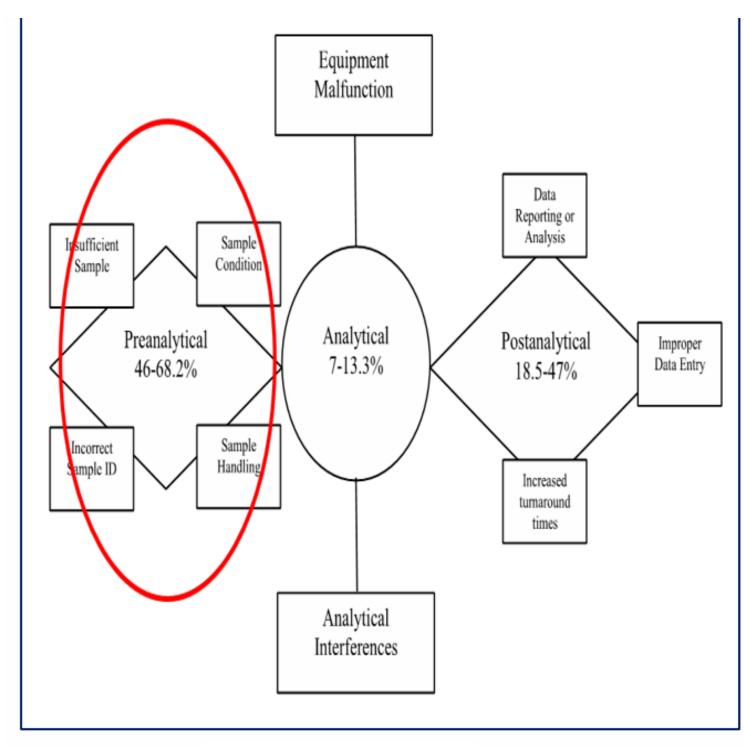
Importancia de una buena historia clínica, la aplicación de las herramientas BAT y orientación de pruebas a realizar en el Laboratorio de Hemostasia.

- Las pruebas del Laboratorio Se deben estratificar por costo y complejidad en diferentes niveles
- Pruebas de primer nivel disponibles en todos los centros de atención
- Pruebas de segundo nivel
- Pruebas de tercer nivel, deben estar centralizadas en Centros de Referencia para garantizar su eficiencia, oportunidad y Rendimiento diagnóstico





Impacto del Sistema de Gestión de Calidad SGC



Doctor **Treats** Patient Patient Visit Doctor Doctor Interprets **Orders** Test Test Test Result Sample Available Collected Analytical Phase Pre-Pre-Analytical Post-Post-Analytical (Test Performed) Preanalytical Postanalytical

Clin Lab Med 33 (2013) 89-109

Seminars in Thrombosis & Hemostasis Vol. 40 No. 2/2014



Hemostasis Laboratory Diagnostics: Characteristics, Communication Issues, and Current Challenges Resulting from Centralization of Laboratory Medicine

Rüdiger E. Scharf¹

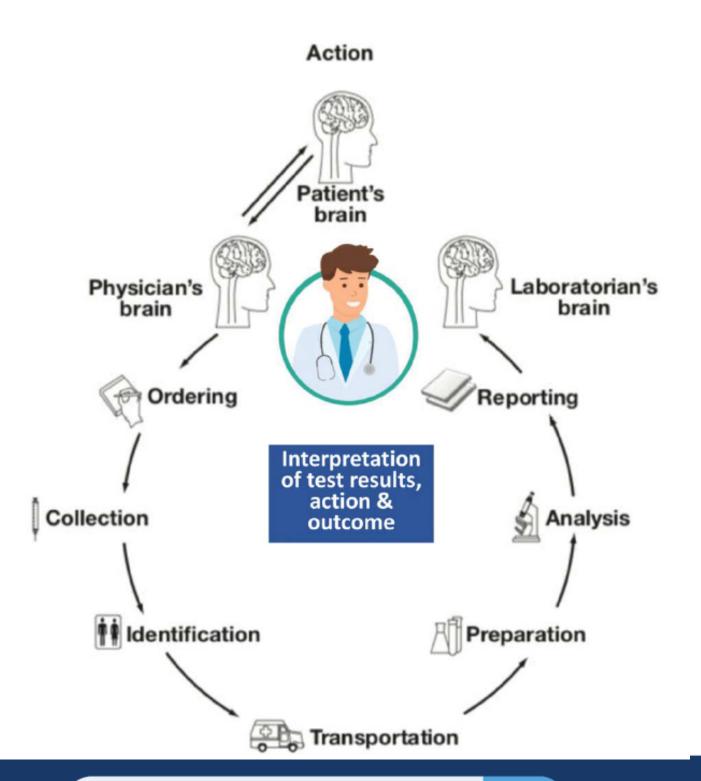


Table 1 Currently unresolved or incompletely accomplished issues in hemostasis testing at the interface between clir centralized laboratory

Poor knowledge of hemostasis in health and disease among clinicians and laboratory professionals⁶

Awareness and harmonization of preanalytical, analytical, and postanalytical procedures⁴

Definition of precise questions to be addressed from the clinician to the laboratorian

Selection of corresponding hemostasis parameters or test panels

Incoming control of requested test parameters, check of consistency and completeness, and prevention of over- or udiagnosing in a given setting or clinical condition, downsizing or extension of requested test panels in individual ca

Heterogeneity of available guidelines for diagnosis and/or therapeutic management⁶

Heterogeneity of diagnostic algorithms for laboratory testing

Inaccurate definition of reference ranges⁶ of several hemostasis parameters in certain clinical conditions (e.g., pregn

Identification and rapid reporting of "true" critical values⁶

Communication of complete clinical information about the patient's history and condition

Correct interpretation of laboratory test results by synopsis of patient history, symptoms, and laboratory finding

Integration of clinicians into laboratory issues and, vice versa, participation of laboratorians in clinical activities (e.g attending ward rounds, mutual consultations)

Assessment of clinical outcome through laboratory testing and feedback to the laboratorian

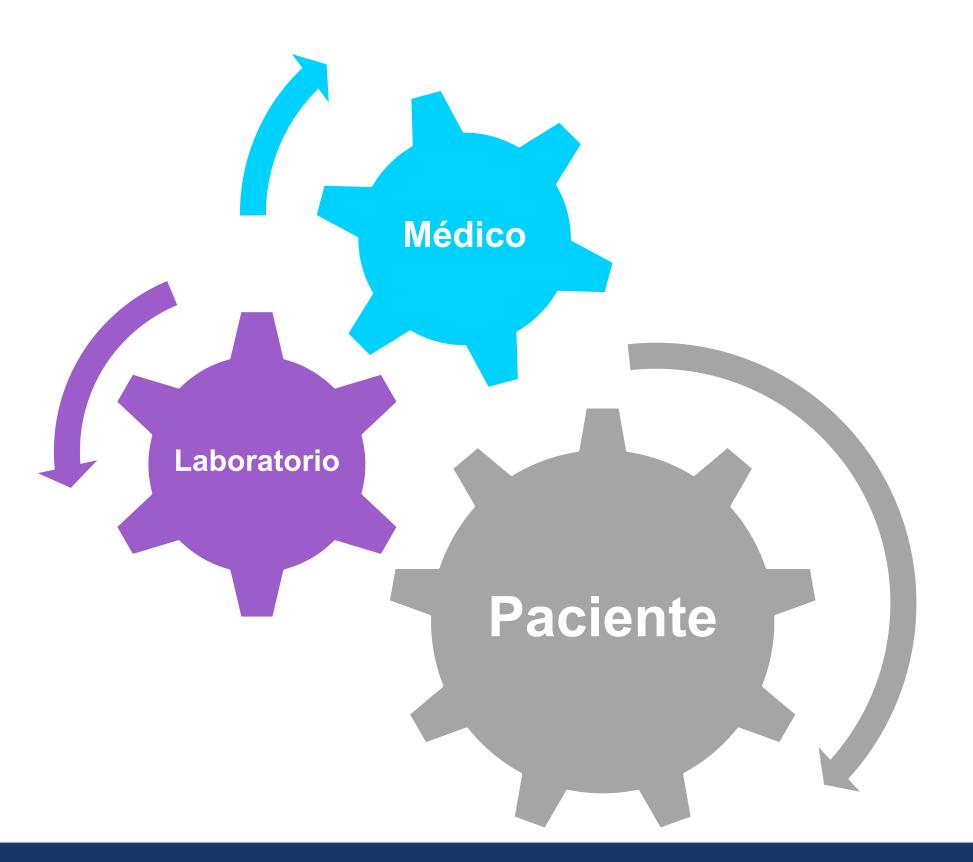
Implementation of "integrated" cost analysis (and reimbursement), i.e., cost per hospital stay and total patient care cost per reported result

Training programs of medical students and continuing medical education (CME) of clinicians and laboratory staff in hemostasis and thrombosis

Implementation of ISTH core curricula for clinical⁷³ and laboratory⁷⁴ hemostasis and thrombosis specialists



El eje del proceso: EL PACIENTE



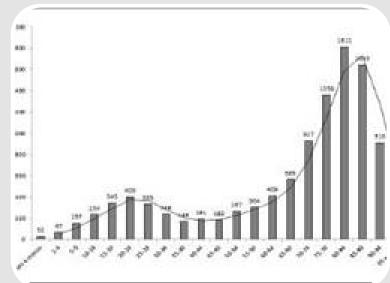


@congreso.cnb









SGC

Problemas
Pobre
estandarización
Falta de capacitación
Alta rotación del
personal
Falta de adherencia a
procesos
Falta de indicadores

*Pobre o mala interpretación de resultados *Retraso en la toma de decisiones *Realización de pruebas especializadas innecesarias

Farmacoeconomía
Para el paciente
Para el centro de
atención
Para el sistema de
salud





Recomendaciones

Educación

Importante experticia de los bacteriólogos en Hemostasia. Garantizar disponibilidad y oportunidad en los resultados

Estandarización

Contar con SGC y aplicarlo en todos los procesos del Lab. Estandarizar IR, metodologías, informes de resultados





Objetivo del simposio

Concientizar el impacto de la fase preanalítica en la calidad de los resultados de hemostasia.

- 1. Hemostasia primaria
- 2. Hemostasia secundaria
- 3. hipercoagulabilidad
- 4. Casos clínicos

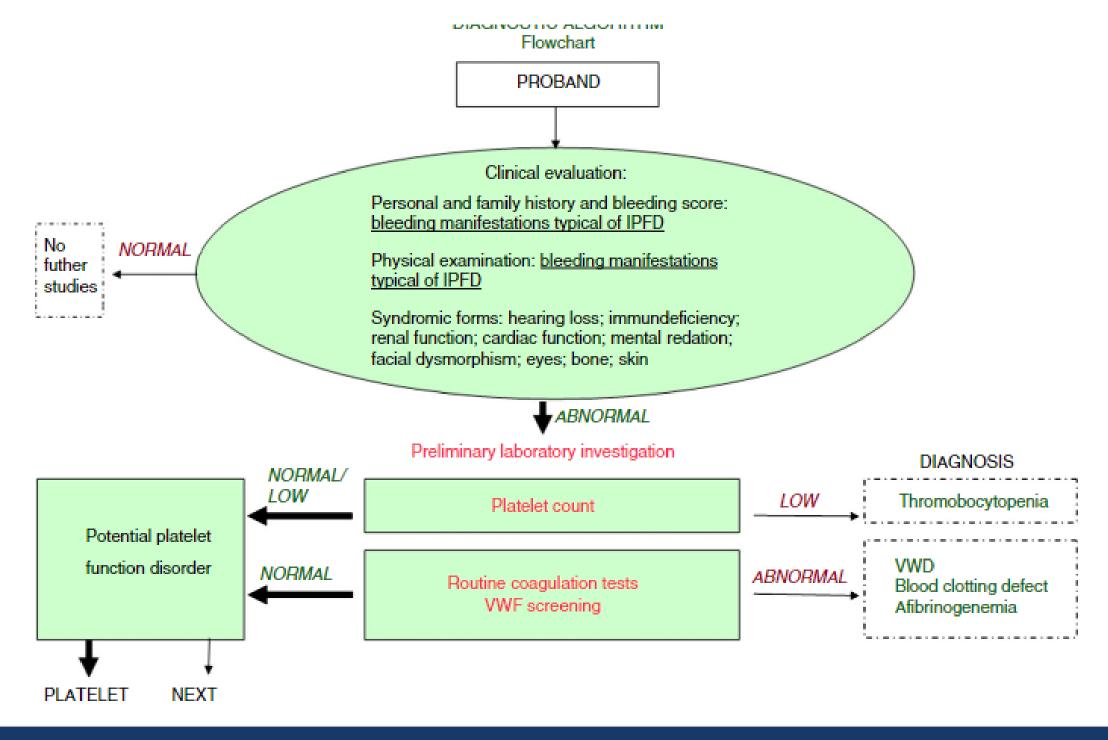




Diagnosis of inherited platelet function disorders: guidance from the SSC of the ISTH

P. GRESELE, FOR THE SUBCOMMITTEE ON PLATELET PHYSIOLOGY¹

Division of Internal and Cardiovascular Medicine, Department of Medicine, University of Perugia, Perugia, Italy









Algunos defectos de la Función plaquetaria

Adhesión

- Enfermedad de von Willebrand (defecto FvW)
- Enfermedad de Bernard Soulier (déficit Gplb)

Alteración de los gránulos plaquetarios

- Desorden del pool de almacenamiento
- Desorden plaquetas de Quebec mutación del gen PLAU activador plaquetario de plasminógeno tipo urokinasa
- Vías de señalización

Agregación

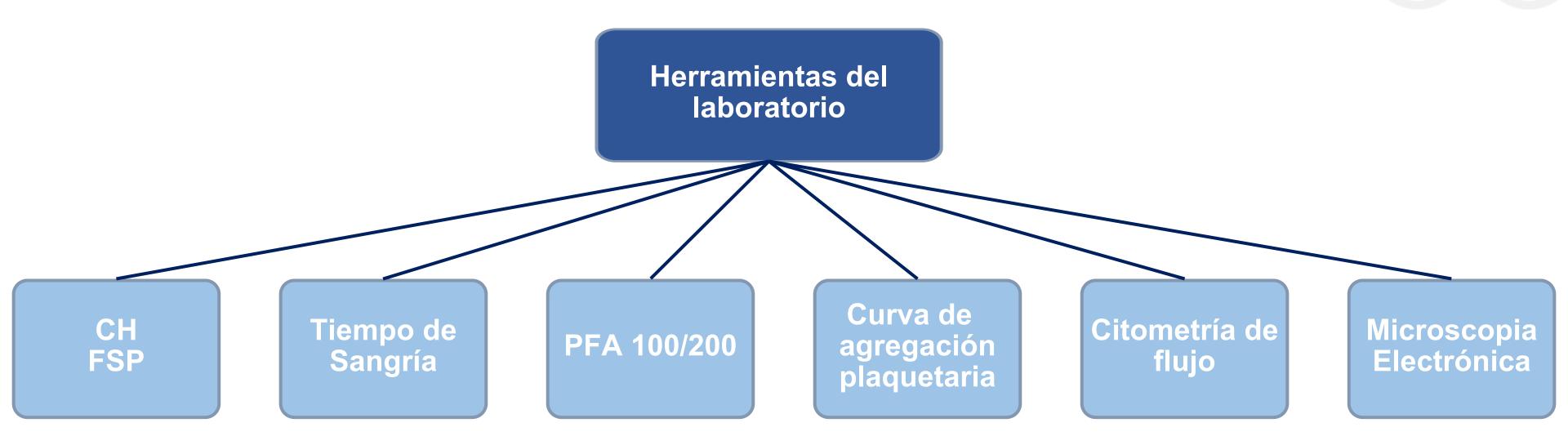
- Afibrinogenemia (ausencia de fib.)
- Tromboastenia de Glanzmann (altéración de Gpllb/Illa)

- Trastornos de Señalización plaquetaria
- Defectos en interacción agonista receptor plaquetario (ej. ADP, colágeno)
- Otros defectos de señalización ej. movilización de calcio.
- Defectos en la regulación del citoesqueleto de la plaqueta
- Síndrome de Wiskott-Aldrich.
- Defectos en la interacción de los fosfolípidos de membrana
- Síndrome de Scott.





Hemostasia primaria Como estudiarla



Dra. Gloria Ramos Ramos, 2021





Metodologías y tecnologías actuales

Metodología: LTA

Tecnología

Equipos: Aggram

Ca 2500

Monitorizar antiagregación

Multiplate, TEG, PFA





AGONISTA	CONCENTRACIÓN
ADP	5,0uM/mL
EPINEFRINA	10,0 uM/mL
COLAGENO	2,0 ug/mL
RISTOCETINA	1.2 mg/mL
A.ARAQUIDONICO	1,5 uM







Strengths and Weaknesses of Light Transmission Aggregometry in Diagnosing Hereditary Platelet **Function Disorders**

Marie-Christine Alessi 1,* , Pierre Sié 2 and Bernard Payrastre 3 on behalf of the French Reference Center on Constitutional Platelet Disorders (CRPP)

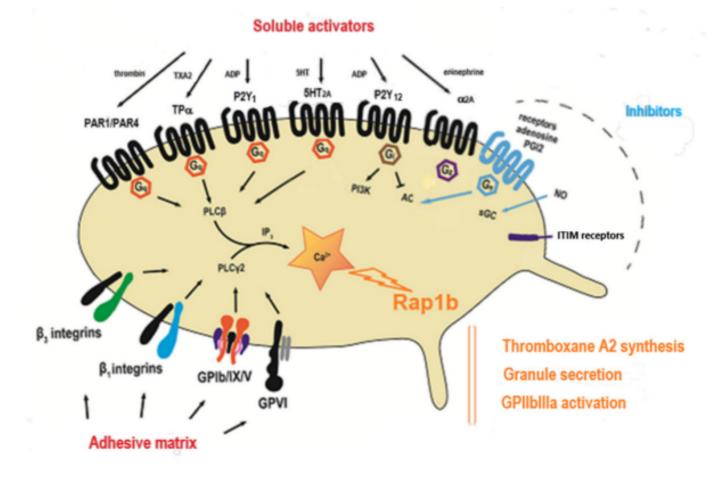
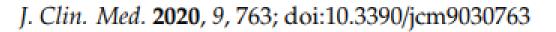


Figure 1. Primary platelet activation pathways. Gq, G protein-containing sub-unit αq ; Gi, G protein-containing sub-unit αi; Gz, G protein-containing sub-unit αz; Gs, G protein-containing sub-unit αs; ADP, adenosine diphosphate; TXA₂, thromboxane A₂; TP, TXA₂ receptor; PAR, protease-activated receptor; P2Y₁/P2Y₁₂, purinergic receptors; PLC-β, phospholipase C-β; PLC-γ, phospholipase C-γ; PI-3-K, phosphoinositide-3-kinase; Akt, protein kinase B; AC, adenylate cyclase; sGC, soluble adenylate cyclase; Rap1b, Ras-related protein Rap-1b; 5HT, 5 hydroxytryptamine (or serotonin); 5HT_{2A}, Serotonin 5-HT_{2A} receptors.

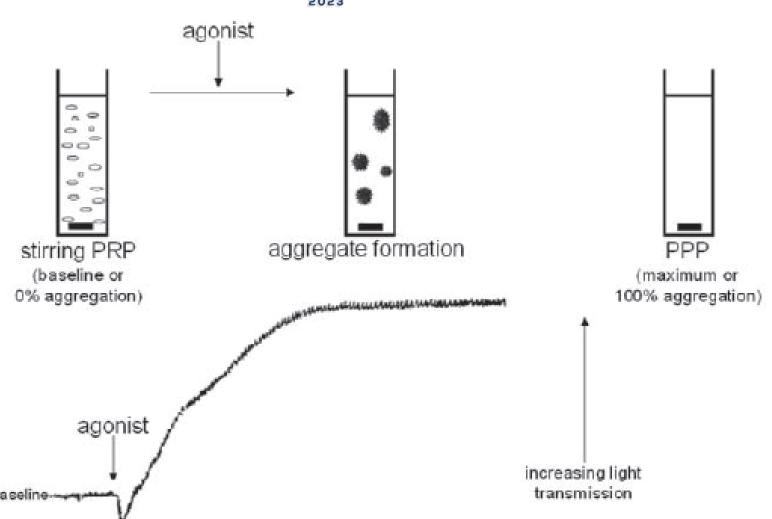
congreso.cnb







Errores frecuentes



Córdova VH, Vargas P, Vega C, Quintero M, Hurtado R. Agregometría plaquetaria.

Med Int Mex 2011;27(1):58-74

- Material sucio
- Falta de imanen el tubo
- Equipo sin mantenimiento
- Pipetas sin calibración
- PRP low o high
- Protocolos no claros





Recomendaciones de las guías

Catherine P.M. Hayward. Development of North American Consensus Guidelines for Medical Laboratories That Perform and Interpret Platelet Function Testing Using Light Transmission Aggregometry.

- Errores es que utilicemos diluciones diferentes sin verificación lo que llevaría a obtener resultados falsos negativos por utilización de alta concentración de agonistas.
- Recordar que estas pruebas funcionales son las herramientas disponibles para estudiar este tipo de alteraciones plaquetarias.

Recomendaciones sobre uso de las concentraciones de los agonistas.

• ADP: 0.5-10 uM/mL (5,0 uM/mL)

• Colágeno: 1-5ug/mL (2,0 ug/mL)

• Epinefrina: 0.5-10 uM/mL (10,0 uM/mL)

Acido araquidónico: 0.5-1.6 uM (1,5 uM/mL)

Ristocetina: 1.2 mg/mL

Determinar los IR en mínimo 40 individuos sanos





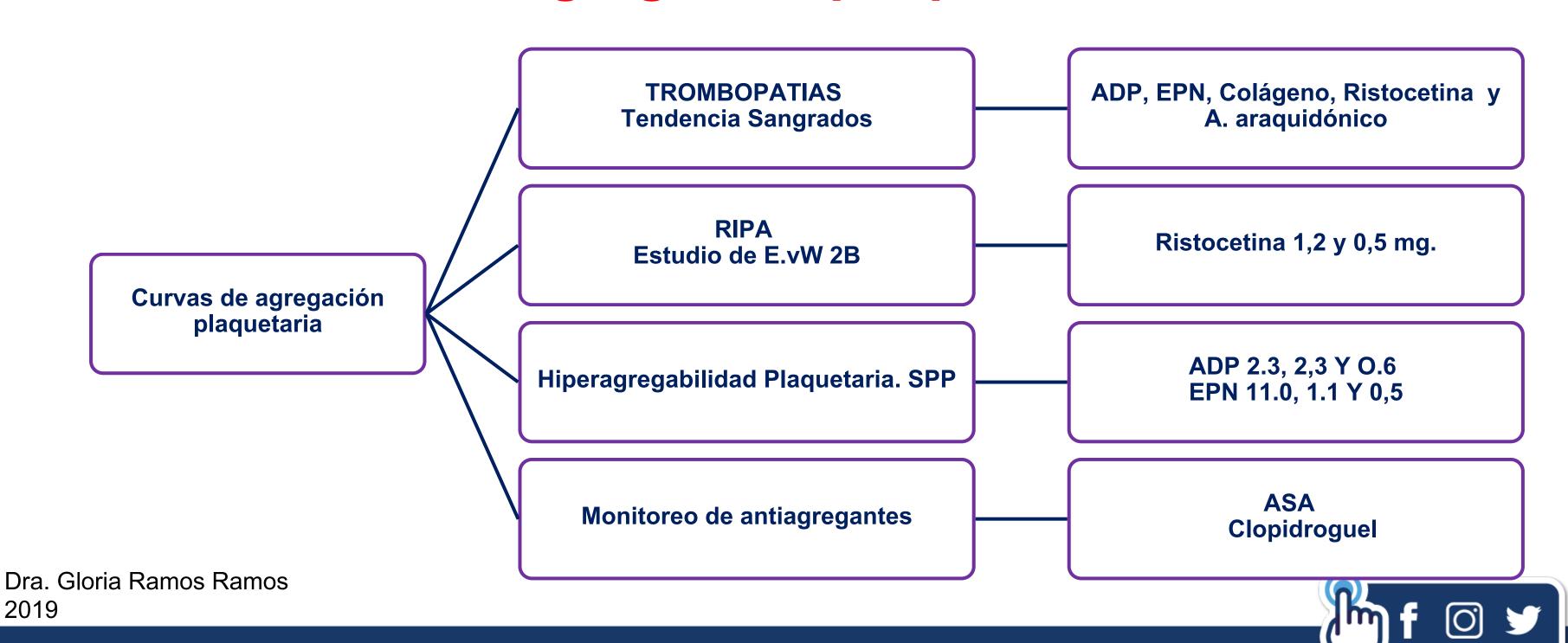
Situaciones importantes a considerar

- Recepción de las ordenes (protocolos)
- Cumplimiento de condiciones
- Recuento de plaquetas
- Toma de Muestra
- centrifugación
- procesamiento
- Interpretación de resultados





Protocolos de Agregación plaquetaria



@congreso.cnb

Situaciones importantes Recepción de las ordenes

CUP	
000004	ADHESIVIDAD O FUNCIONABILIDAD PLAQUETARIA COL/ADP
902001	COL/ EPI PFA 100 / 200
000000	AGREGACIÓN PLAQUETARIA CON RISTOCETINA 2
902002	DILUCIONES [RIPA]
902053	AGREGACIÓN PLAQUETARIA CON RISTOCETINA 3
902033	DILUCIONES
902003	AGREGACION PLAQUETARIA (PROTROCOLO TROMBOSIS)



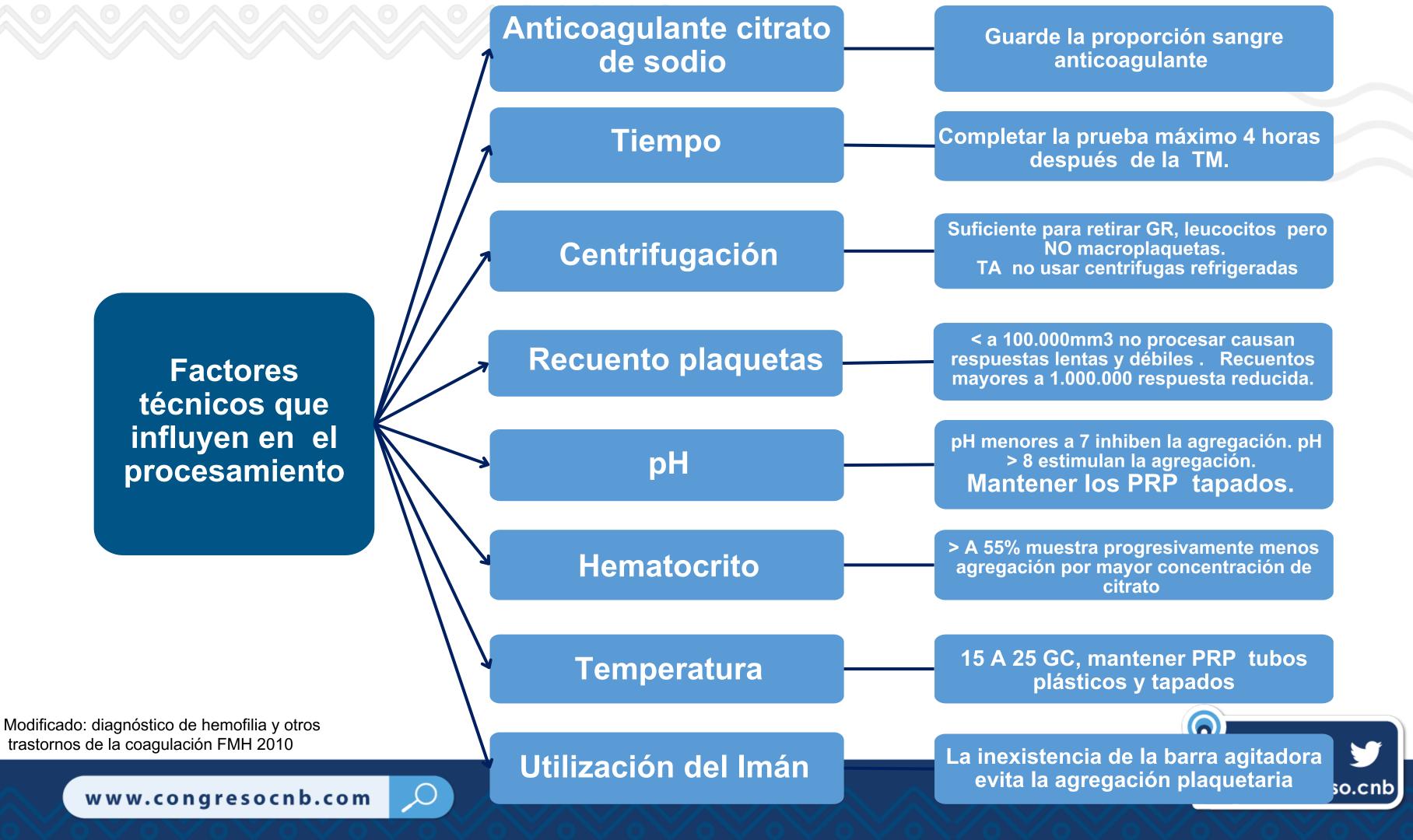




Situaciones importantes Cumplimiento de condiciones







Fase preanalítica responsabilidad Laboratorio

Definir protocolo

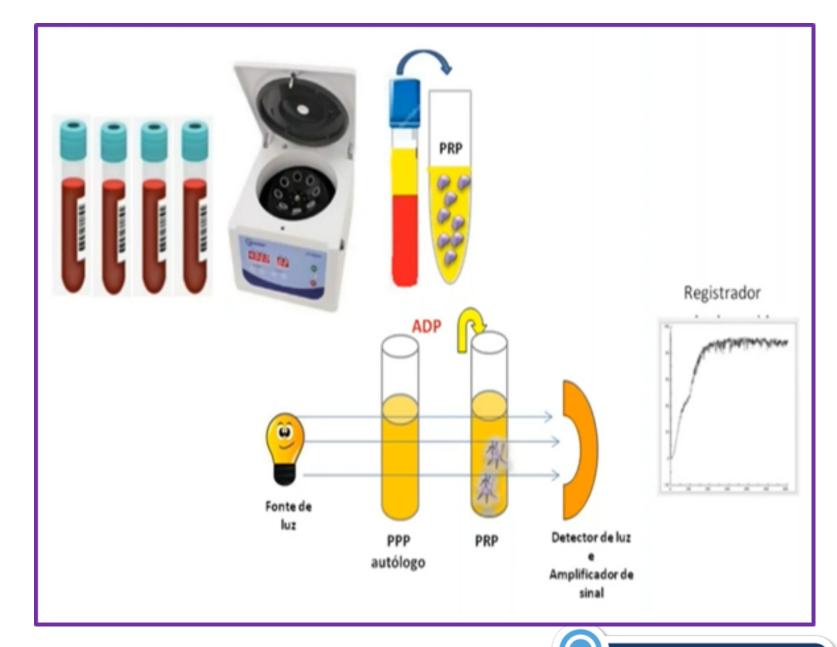
Toma de Muestra limpia, sin trauma

Respete la proporción sangre anticoagulante

Torniquete uso de banda, No mas de un minuto

No transporte por Sistema de tubo neumático (activación y hemolisis) Transportar a TA 20 a 25GC

Condición de rechazo, plasmas hemolizados y quilosos





Medicamentos que inhiben la agregación plaquetaria

Tabla 3. Medicamentos que inhiben la función de las plaquetas [165]								
Droga	Efecto sobre la plaqueta	Duración						
Aspirina	Irreversible	5 a 7 días						
Ibuprofeno	Reversible	24 horas						
Naproxeno	Reversible	Más de 4 días						
Tionopiridinas	Irreversible	7 días						
Dipiridamol	Reversible	Mínimo (usualmente no acarrea problemas con los procedimientos)						
Dipiridamol/aspirina de larga acción	Reversible/irreversible	5 días						
Cilstazol	Reversible	Mínimo (usualmente no acarrea problemas con los procedimientos)						

Alimentos y aditivos	
Ácidos grasos omega 3, aceite de pescado	Reducción en la síntesis de TXA ₂
Vitamina E, cebolla	Inhibición del metabolismo del ácido araquidónico
Cebolla, comino, cúrcuma, clavo	↓ producción de tromboxano plaquetario
Ajo	Inhibición del fibrinógeno que se une a las plaquetas

Modificado: diagnóstico de hemofilia y otros trastornos de la coagulación FMH 2010







Medicamentos que inhiben la agregación plaquetaria

H58-A Platelet function Testing by Aggregometry Approved Guideline.2008

www.congresocnb.com



Volume 28 H58-A

Appendix A. Products Affecting Platelet Function (Adapted from George JN, Shattil SJ. The clinical importance of acquired abnormalities of platelet function. N Engl J Med. 1991; 324:27-39; and Kottke-Marchant K, Corcoran G. The laboratory diagnosis of platelet disorders. Arch Pathol Lab Med. 2002;126:133-146. Reprinted with permission from Archives of Pathology & Laboratory Medicine. Copyright 2002. College of American Pathologists.)

COX-1 Inhibitors	Antimicrobials
Aspirin and all proprietary or over-the-counter (OTC) preparations containing acetylsalicylic acid	β-lactams (penicillins, cephalosporins)
COX-1 and COX-2 Inhibitors (Nonsteroidal antiinflammatory drugs [NSAIDs])	Amphotericin (antifungal)
Ibuprofen	Hydroxychloroquine (antimalarial)
Indomethacin, naproxen	Nitrofurantoin
Mefenamic acid	Chemotherapeutic Agents
COX-2 Inhibitors (Coxibs)	Asparaginase
Celecoxib	Plicamycin
Inhibitors of Platelet Receptors	Vincristine
Abciximab (α _{IIb} β ₃)	Psychotropics and Anesthetics
Clopidogrel (P2Y ₁₂)	Tricyclic antidepressants (imipramine)
RGD Peptomimetics	Phenothiazines (chlorpromazine)
Eptifibatide	Local and general anesthesia (fluothane)
Tirofiban	Miscellaneous Agents
Phosphodiesterase Inhibitors	Clofibrate
Dipyridamole	Dextrans
Cilostazole	Guaifenesin (expectorant)
Anticoagulants	Radiographic contrast
Heparin	Foods/Herbals
Warfarin	Alcohol
Direct thrombin inhibitors (lepirudin, argatroban, bivalirudin)	Caffeine (methylxanthine)
Cardiovascular Agents	Garlic, onion, ginger
β-adrenergic blockers (propranolol)	Fish oil
Vasodilators (nitroprusside, nitroglycerin)	Vitamins C and E
Diuretics (furosemide)	
Calcium channel blockers	

NOTE: This is only a partial list; many other agents not shown also affect platelet function. Product information should always be reviewed for comments pertaining to platelet inhibiting activity.



Situaciones importantes Toma de Muestra

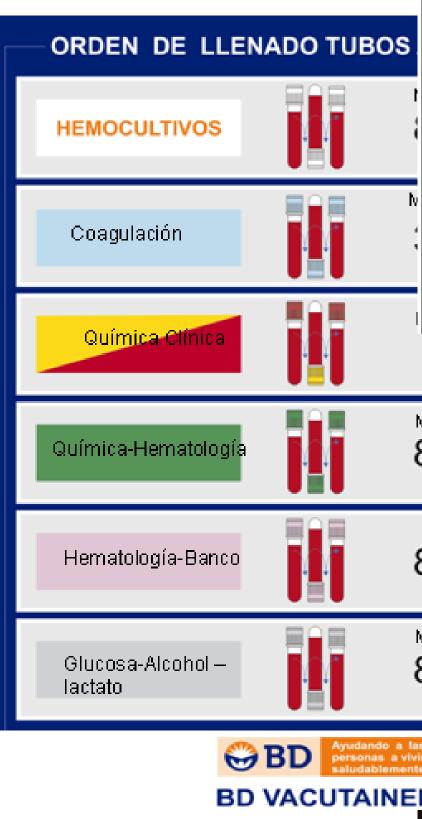




ERRORES PREANALÍTICOS INCORRECTO Uso prolongado del torniquete Uso de guante como torniquete Múltiples punciones Uso de jeringa Orden de posición del tubo No guarde proporción sangre: anticoagulante Sin corrección a HTO >55% centrifugación no estandarizada y refrigerada Falta de estandarización en tiempos y en protocolos de almacenamiento Gloria Ramos Ramos 2019

w.congresocnb.com

FASE PREANALÍTICA CORRECTO No más de un minuto Uso de banda ubicada mínimo a 5cm del sitio de la punción Una sola punción Sistema cerrado Siempre el azul primero Respete la proporción sangre: anticoagulante 9:1 Con corrección al HTO centrifugación que garantice PPP (plasma pobre en plaquetas), < 10.000 plaquetas mm3 y a temperatura ambiente Procesos de transporte y almacenamiento estandarizados





High

Normal

Citrate anticoagulant

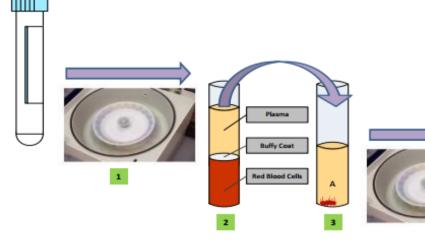
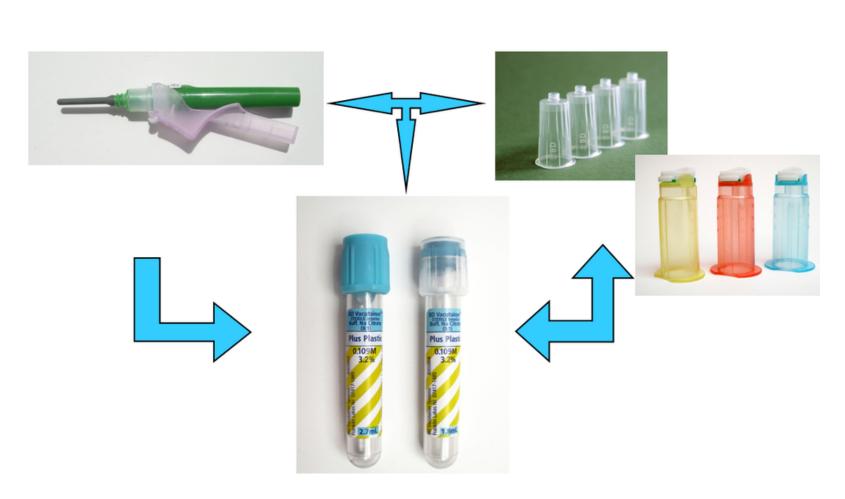
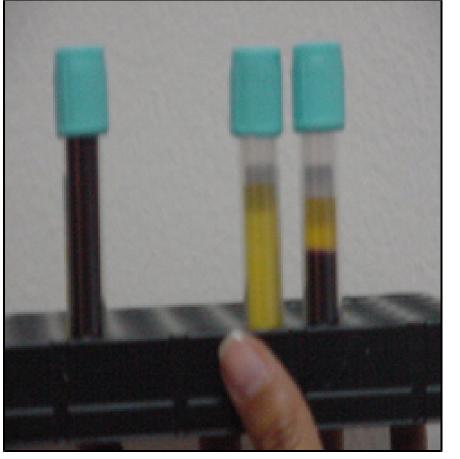


Figure 1. Double Centrifugation Procedure

Sistemas de Extracción de Sangre al Vacío







Garantizar flujo sanguíneo sin obstrucción. Un aspirado lento puede activar y formar microcoágulos

Guías CLSI H21 Joint commission CAP

Extasis venosa

- 1. Activa FT y demás factores

- 2. Riesgo de hematoma.3. Trauma (especial muestra es para diagnóstico)4. El torniquete no debe durar mas de un minuto. El guante es un elemento de protección personal







Situaciones importantes centrifugación





- Centrifugar a temperatura ambiente
- Estandarizar tiempos y velocidad para garantizar obtener un PRP.
- Separar, marcar tubos y taparlos
- Deben permanecer a temperatura ambiente.
- Para el PPP: Centrifugar por 10 minutos a 1700G (3500RPM).
- Analizarlas dentro de las 4 horas contando el tiempo desde la TM.





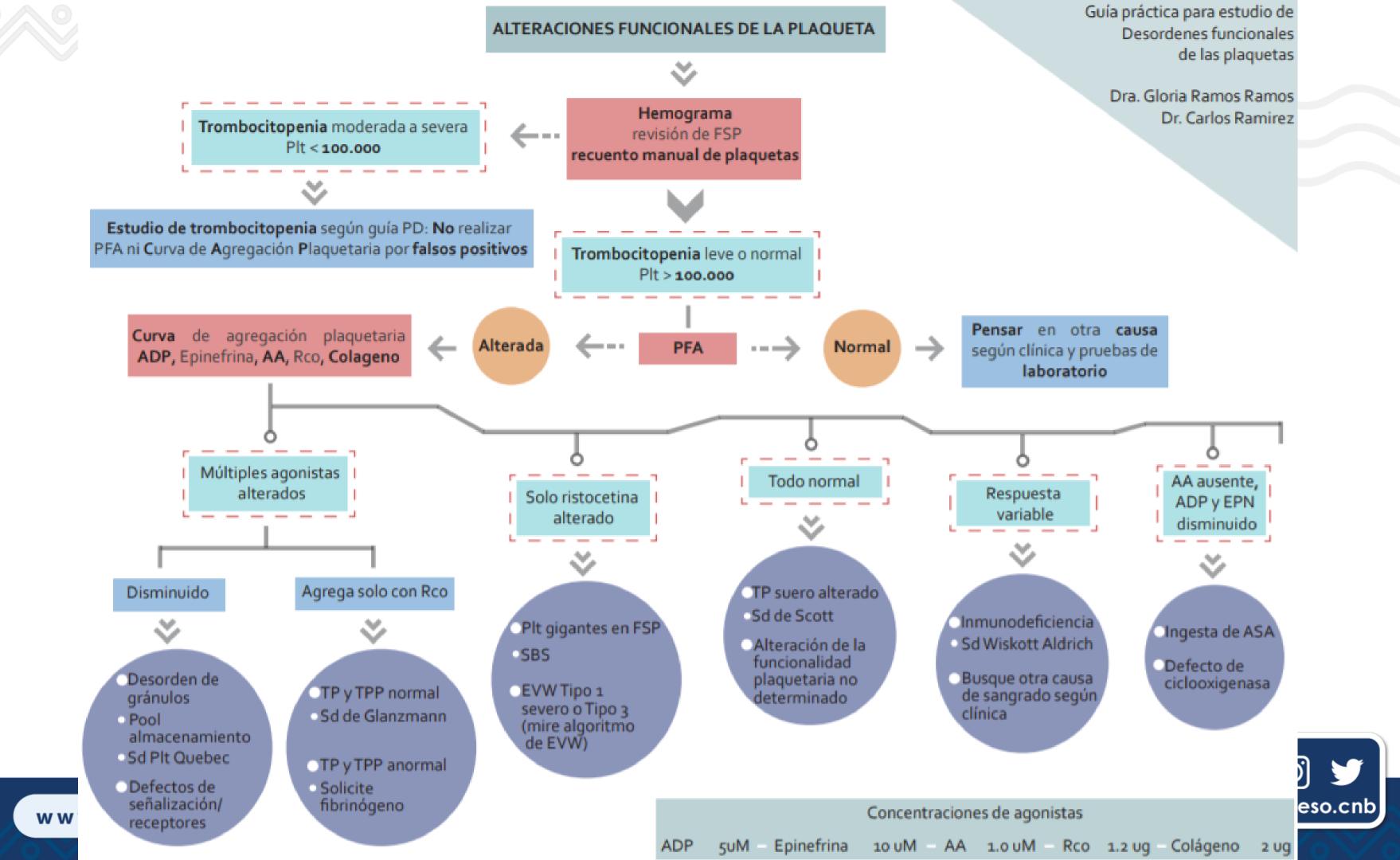
Cortesia H&H Lab



Curvas de agregación Situaciones especiales Interpretación de resultados









Curva de agregación estudio de trombopatías





Curva de agregación plaquetaria compatible con Bernard Soulier ó von Willebrand



LABORATORIO DE REFERENCIA EN HEMOSTASIA Y HEMATOLOGIA H & H Lab S.A.S.

Carrera 16 No. 80-77 Cons 208/209 Tel.: 3519011 Cel: 3106748067 E-mail: hyhlabsas@gmail.com Pàgina web: www.hyhlab.com

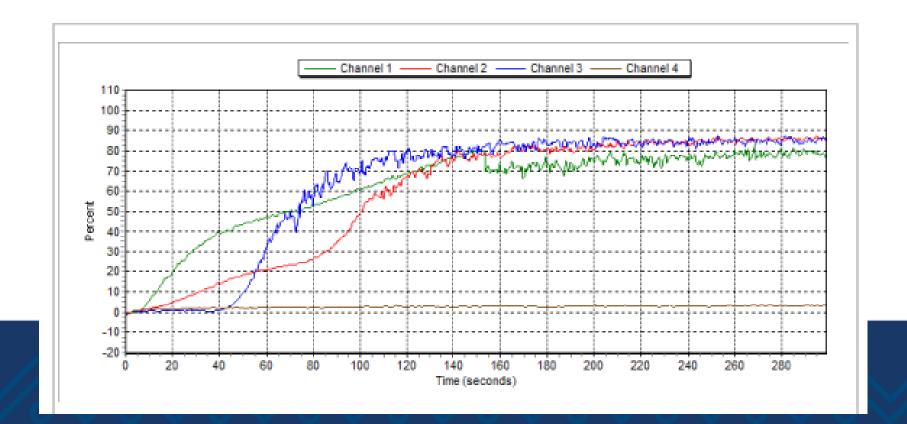
1	Adenosine	Diphosphate	551189		5	µM/mL	0,075	1,087
2	Epinephrin	iė	551170		10	µM/mL	0,072	1,037
3	Collagen		551188		2	µg/mL	0,072	1,037
4	Ristocetin		5199		1,20000004768372	mg/mL	0,064	1,058
Chnl	Curve No.	Max %	TMax	Slope	Slope2	Lag	% Area	Under Curve
1	530	82,5	269	84,5		3,7		
2	531	87,4	295	29,2	90,4	0		
3	532	87,4	282	133,4		0		
4	533	3,6	271	2,5		0		

Comentario:

Agregación plaquetaria:

ADP 5.0 μM/mL : 82.5 % V.R : 50 - 100 % EPN 10.0 μM/mL : 87.4 % V.R : 50 - 100 % COLL 2.0 μg/mL : 87.4 % V.R : 50 - 100 % RIST 1.2 mg/mL : 3.6 % V.R : 50 - 100 %

Bacterióloga Martha Gamboa T.p. 51.905.806





LABORATORIO DE REFERENCIA EN HEMOSTASIA Y HEMATOLOGIA H & H Lab S.A.S.

Carrera 16 No. 80-77 Cons 208/209 Tel.: 3519011 Cel: 3106748067 E-mail: hyhlabsas@gmail.com Pàgina web: www.hyhlab.com

Chnl	Reag Lot No.		Reag Lot No. Reag. Conc.		Units	PPP PRP		
1	Arachidoni	c Acid	5364		1		0,089	1,062
Chnl	Curve No.	Max %	TMax	Slope	Slope2	Lag	% Area Under Curve	
1	534	90,2	289	104,8		20,4		

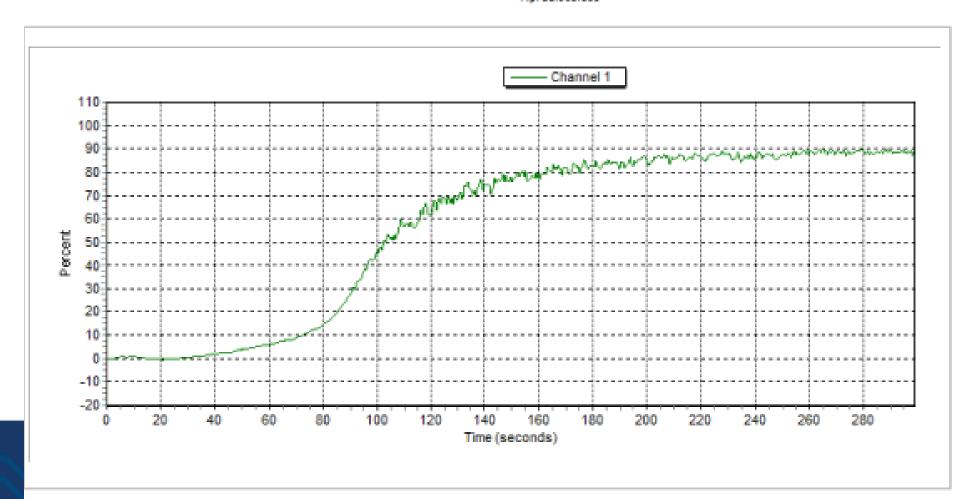
Comentario:

Agregación plaquetaria:

ACA 1.0 μg/mL : 90.2 %

V.R: 50 - 100 %

Bacterióloga Martha Gamboa T.p. 51.905.806



Curva de agregación plaquetaria Trombastemia de Glanzmann



LABORATORIO DE REFERENCIA EN HEMOSTASIA Y HEMATOLOGIA H & H Lab S.A.S.

Carrera 16 No. 80-77 Cons 208/209 Tel.: 3519011 Cel: 3106748067 E-mail: hyhlabsas@gmail.com Pàgina web: www.hyhlab.com

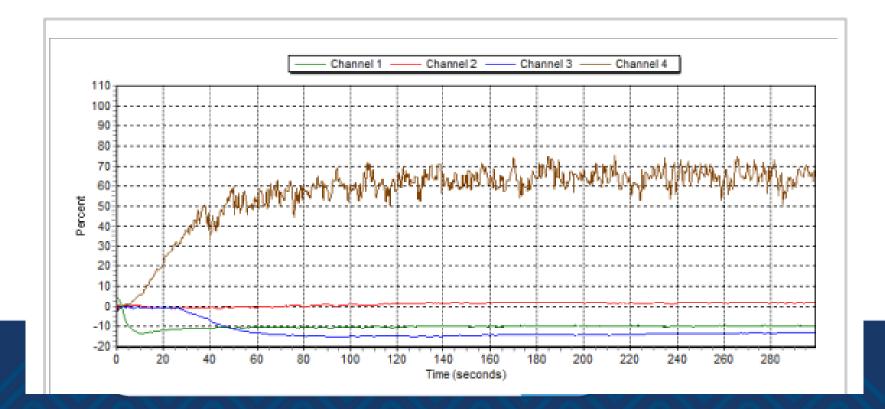
Chnl	Reag		Lot No.		Reag. Conc.	Units	PPP	PRP	
1	Adenosine	Diphosphate	551189		5	µM/mL	0,054	1,004	
2	Epinephrin	ie	551170		10	µM/mL	0,052	0,968	
3	Collagen		551188		2	µg/mL	0,051	0,944	
4	Ristocetin		5199		1,20000004768372	mg/mL	0,052	0,939	
Chnl	Curve No.	Max %	TMax	Slope	Slope2	Lag	% Area Under Curve		
1	483	4,1	1	8,1		10,8			
2	484	2,0	133	3,0	4,8	44,7			
3	485	0,2	5	2,2		96,6			
4	486	75,2	213	97,8		0			

Comentario:

Agregación plaquetaria:

ADP 5.0 μM/mL : 4.1 % V.R : 50 - 100 % EPN 10.0 μM/mL : 2.0 % V.R : 50 - 100 % COLL 2.0 μg/mL : 0.2 % V.R : 50 - 100 % RIST 1.2 mg/mL : 75.2 % V.R : 50 - 100 %

Bacterióloga Martha Gamboa T.p. 51.905.806





LABORATORIO DE REFERENCIA EN HEMOSTASIA Y HEMATOLOGIA H & H Lab S.A.S.

Carrera 16 No. 80-77 Cons 208/209 Tel.: 3519011 Cel: 3106748067 E-mail: hyhlabsas@gmail.com Pàgina web: www.hyhlab.com

Chnl	Reag Lot No.		Reag			Reag. Conc.	Units	PPP	PRP
3	Arachidoni	idonic Acid 5364 1,5		μg/mL	0,064	0,957			
Chnl	Curve No.	Max %	TMax	Slope	Slope2	Lag	% Area Under Curve		
3	487	10,0	289	35,1		14,9			

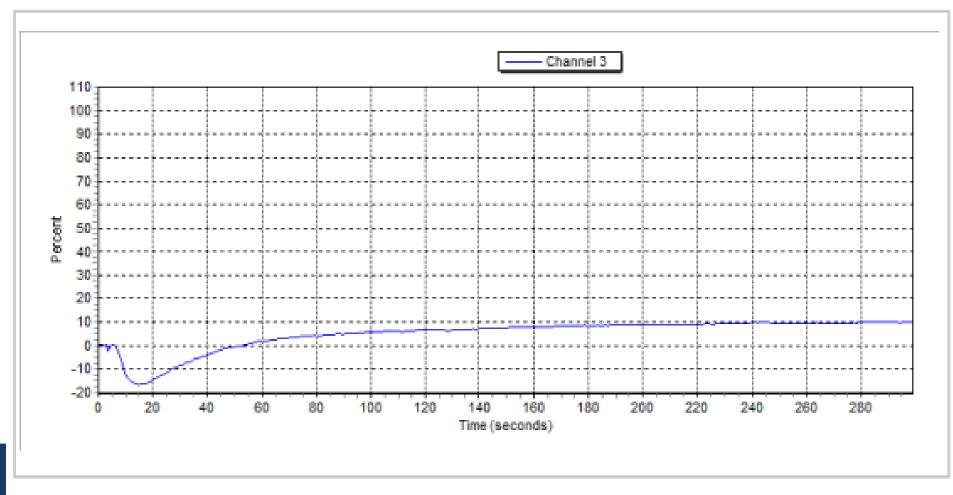
Comentario:

Agregación plaquetaria:

ACA 1.0 µg/mL : 10.0 %

V.R: 50 - 100 %

Bacterióloga Martha Gamboa T.p. 51.905.806



Alteración Vía de Ácido Araquidónico

- Cuando se adiciona AA a un PRP, éste se convierte en TXA2 por COX. El TXA2 induce activación plaquetaria y liberación de los gránulos
- Deficiencia de Fosofolipasa A2
- Deficiencia de Ciclo-oxigenasa
- Deficiencia de Tromboxano sintasa.
- Variabilidad en la respuesta a AA, agonista de TXA2-R (U46619), TXA2 y metabolito urinario.
- Disminución de la liberación de gránulos delta (disminución del feed back positivo por la producción de TxA2).
- Manifestaciones clínicas pueden ir de leves a moderados.



LABORATORIO DE REFERENCIA EN HEMOSTASIA Y HEMATOLO H & H Lab S.A.S.

Carrera 16 No. 80-77 Cons 208/209 Tel.: 3519011 Cel : 3106748067 E-mail: hyhlabsas@gmail.com Pàgina web : www.hyhlab.com

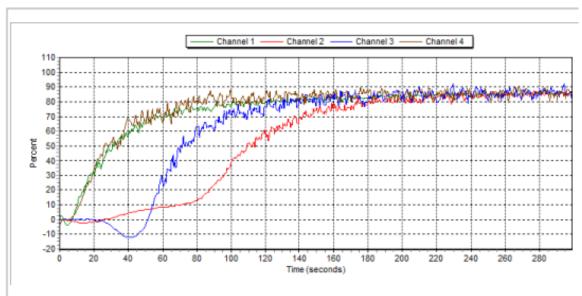
Chnl	Reag		Lot No.		Reag. Conc.	Units	PPP	PRP	
1		Diphosphate	551189		5	µM/mL	0.105	1,203	
2	Epinephrin		551170		10	µM/mL	0,088	1,083	
3	Collagen		551188		2	µg/mL	0,125	1,075	
4	Ristocetin		5199		1,20000004768372	mg/mL	0,102	1,049	
Chnl	Curve No.	Max %	TMax	Slope	Slope2	Lag	% Area	Under Curve	
1	510	87,3	283	146,6		4,7			
2	511	87,5	277	19,4	87,6	15,3			
3	512	92,6	230	162,1		40,8			
4	513	90,5	268	158,4		4,2			

Comentario:

Agregación plaquetaria:

ADP 5.0 μM/mL : 87.3 % V.R: 50 - 100 % EPN 10.0 μM/mL : 87.5 % V.R: 50 - 100 % COLL 2.0 μg/mL : 92.6 % V.R: 50 - 100 % RIST 1.2 mg/mL : 90.5 % V.R: 50 - 100 %

Bacterióloga Martha Gamboa T.p. 51.905.80





LABORATORIO DE REFERENCIA EN HEMOSTASIA Y HEMATO H & H Lab S.A.S.

Carrera 16 No. 80-77 Cons 208/209 Tel.: 3519011 Cel: 3106748067 E-mail: hyhlabsas@gmail.com Pagina web: www.hyhlab.com

Chnl	Reag		Lot No.		Reag. Conc.	Units	PPP	PRP
3	Arachidoni	ic Acid	5364		1,5		0,064	0,957
Chnl	Curve No.	Max %	TMax	Slope	Slope2	Lag	% Area Under Curve	
3	487	10,0	289	35,1		14,9		

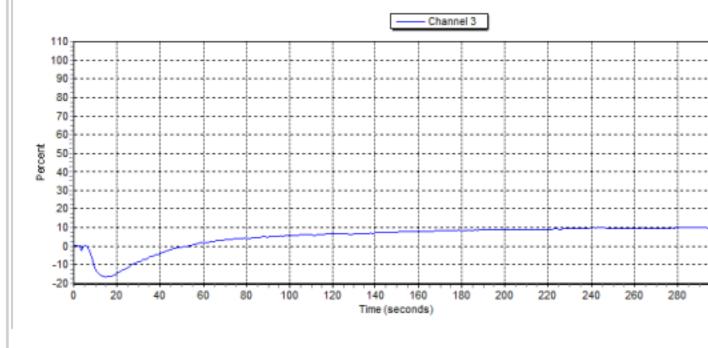
Comentario :

Agregación plaquetaria:

ACA 1.0 µg/mL : 10.0 %

V.R: 50 - 100 %

Bacterióloga Martha Gamboa T.p. 51.905.806











Curva de agregación Inducida por Ristocetina RIPA







RIPA

Concentración de 0,8 a 1,2 mg/dl

Curvas agregación:

- 1. Normales
- 2. Disminuidas, alteraciones vW cuantitativas severas o cualitativas excepto en 2B. 3. EBS

Dosis bajas hasta 0,5 mg

EvW 2B

Concentraciones menores de 0,3 mg

Se observa una mayor capacidad de respuesta en Pseudo-vW alteración receptor de la Gp Iba de la plaqueta





LABORATORIO DE REFERENCIA EN HEMOSTASIA Y HEMATOLOGIA H & H Lab S.A.S.

Carrera 16 No. 80-77 Cons 208/209 Tel.: 3519011 Cel: 3106748067 E-mail: hyhlabsas@gmail.com Pàgina web: www.hyhlab.com

Test Type: Platelet Aggregation Test Name: *Screen 5 Date & Time: 01/10/2018 02:12:16 p.m. Worklist No.: 4

Run Type: Patient Worklist ID: 01102018-3

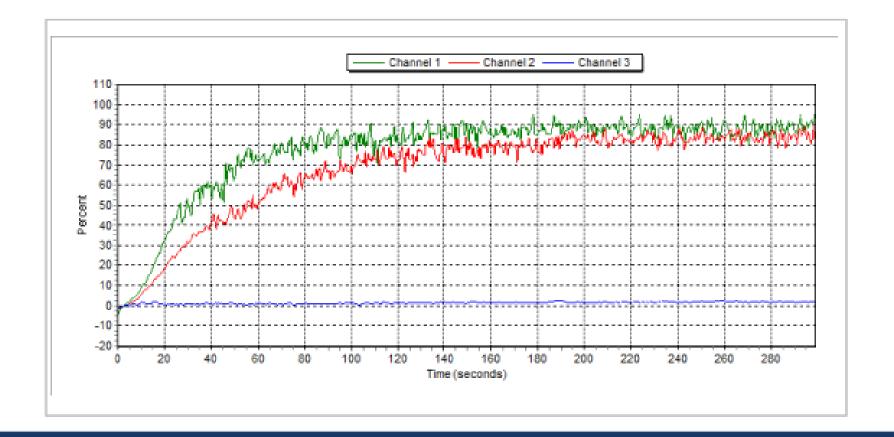
Chnl	Reag		Lot No).	Reag. Conc.	Units	PPP	PRP
1	Ristocetin		5199		1,20000004768372	mg/mL	0,175	0,914
2	Ristocetin		5199		0,899999976158142	mg/mL	0,174	0,948
3	Ristocetin		5199		0,5	mg/mL	0,179	0,935
Chnl	Curve No.	Max %	TMax	Slope	Slope2	Lag	% Area	Under Curve
1	105	97,5	300	145,4		0		
2	107	89,5	298	80,7		0		
3	106	2,6	276	3,2		2,7		

Comentario :

Agregación plaquetaria con Ristocetina (RIPA)

RIST 1.2 mg/mL : 97.5 % V.R : 50 - 100 % RIST 0.9 mg/mL : 89.5 % V.R : 50 - 100 % RIST 0.5 mg/mL : 2.6 % V.R : 0 - 10 %

Bacteriòloga Martha Gamboa T.p. 51.905.806





LABORATORIO DE REFERENCIA EN HEMOSTASIA Y HEMATOLOGIA H & H Lab S.A.S.

Carrera 16 No. 80-77 Cons 208/209 Tel.: 3519011 Cel: 3106748067 E-mail: hyhlabsas@gmail.com Pàgina web: www.hyhlab.com

Test Type: Platelet Aggregation Test Name: *Screen 5 Date & Time: 01/10/2018 02:12:16 p.m. Worklist No.: 4

Run Type: Patient

Worklist ID: 01102018-3

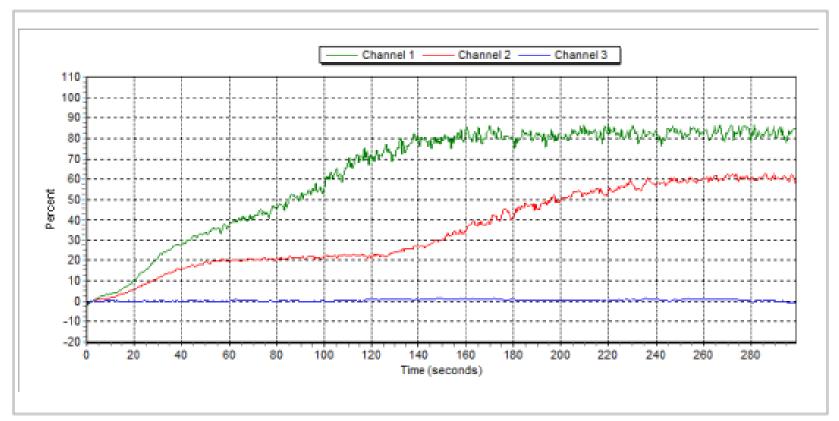
Chnl	Reag		Lot No.		Reag. Conc.	Units	PPP	PRP
1	Ristocetin 5199		1,20000004768372	mg/mL	0,06	1,056		
2	Ristocetin		5199		0,899999976158142	mg/mL	0,057	1,029
3	Ristocetin		5199		0,5	mg/mL	0,055	0,994
Chnl	Curve No.	Max %	TMax	Slope	Slope2	Lag	% Area	Under Curve
1	503	86,7	220	62,5		0		
2	505	62,9	286	33,0		0		
3	504	1,5	149	3,0		300,1		

Comentario:

Agregación plaquetaria con Ristocetina (RIPA)

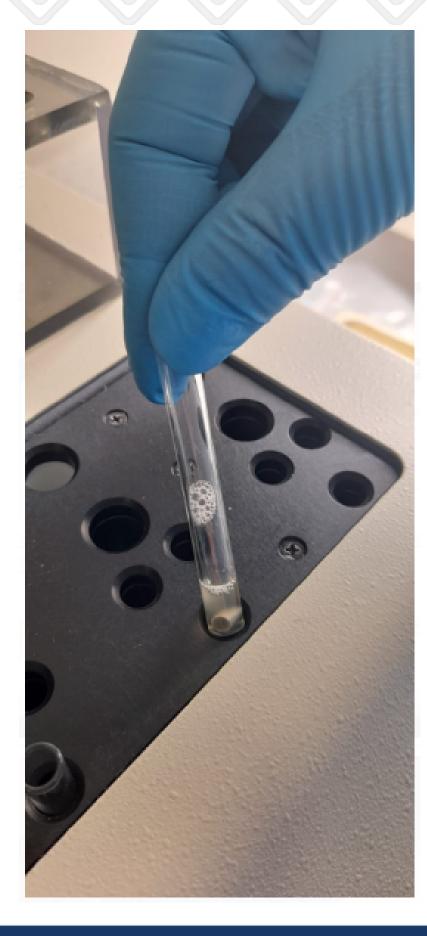
RIST 1.2 mg/mL : 86.7 % V.R : 50 - 100 % RIST 0.9 mg/mL : 62.9 % V.R : 50 - 100 % RIST 0.5 mg/mL : 1.5 % V.R : 0 - 10 %

Bacterióloga Martha Gamboa T.p. 51.905.806









Error en dispensar los 25 uL de la ristocetina





Channel	Cry Seq No	Ch No	Lot Number	Reag.	Conc.	Units	PPP	PRP	Max %	Max Time	Slope	Lag Time	Start Date and Time	Worklist No.	Worklist ID	RunType	TestType	Module Serial No.	Main Test Name	Main Te
1	526	1	5199	RISTO	1,2	mg/mL	0,074	0,977	85,2	181	108,6	0,0	21/06/2022 01:13:4	132	21062022-7	Palient	Platelet Aggregation	631126201	"Screen 4	
2	527	2	5199	RISTO	0,5	mg/mL	0,070	0,960	1,3	22	4,8	211,3	21/06/2022 01:13:4	132	21062022-7	Patient	Platelet Aggregation	631126201	"Screen 4	





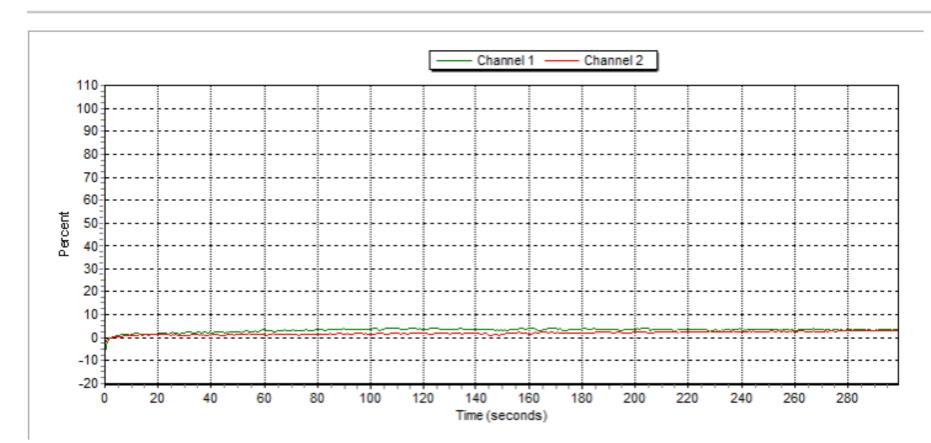
Comentario:

Agregación plaquetaria con Ristocetina (RIPA):

RIST 1.2 mg/mL : 4.3 % V.R : 50 - 100 % RIST 0.5 mg/mL : 3.2 % V.R : 0 - 10 %

NOTA: Se informa como DATO CRITICO.

Bacterióloga Martha Gamboa T.p. 51.905.806





H&H Lab. Laboratorio de Referencia en Hemostasia y Hematologia S.A.S.

www.hyhlab.com

Intervalo de Referencia

Técnica: Inmunoturbidimetria Amplificada con Particulas de Làtex

Técnica: Formación del Coágulo

Técnica: Inmunoturbidimetria Amplificada con Particulas de Làtex

50 - 170 UI/dL

50 - 150 UI/dL

50 - 160 UI/dL

NIT900339257-7

Impresión:	02/11/2021 12:54 IN	FORME DE RESULTADOS	
Orden:	2110270000	Fecha: 27/10/2021 9:57	Servicio: Especializado
	<u>Paciente</u>	<u>Médico</u>	<u>Entidad</u>
Nombre	1	No informado	
Dirección			'
Teléfono			
Documento	RC Edad: i Años	Rem:	

Automatizadas

 B^*

Resultado

5.1 UI/dL

5.3 UI/dL

Menor de 3.0 UI/dL

Actividad Funcional del Factor von Willebrand

Exámen

(FvW:GP1bM)
Resultados medium

Validado en: 28/10/2021 15:18

Dosificación de Factor VIII de la Coagulación

Resultado:

Validado en: 28/10/2021 15:18

Factor von Willebrand (Antígeno)

Resultado Medium: Nota: Plasma remitido por la entidad.

Nota: Se informa el resultado como dato crítico.

Nota: La interpretación de los resultados la realiza el médico tratante, correlacionando las condiciones al momento de la toma de muestra, clínica y

tratamiento actual del paciente.
Validado en: 28/10/2021 15:18

Traicela Janques

IRMA MARCELA YANGUEN Bacteriologa Reg:1014205420 GLORIA RAMOS RAMOS Bacteriologa Reg:538 19 156





Trombopatía perfil normal



LABORATORIO DE REFERENCIA EN HEMOSTASIA Y HEMATOLOGIA H & H Lab S.A.S.

Carrera 16 No. 80-77 Cons 208/209 Tel.: 3519011 Cel: 3106748067 E-mail: hyhlabsas@gmail.com Pàgina web: www.hyhlab.com

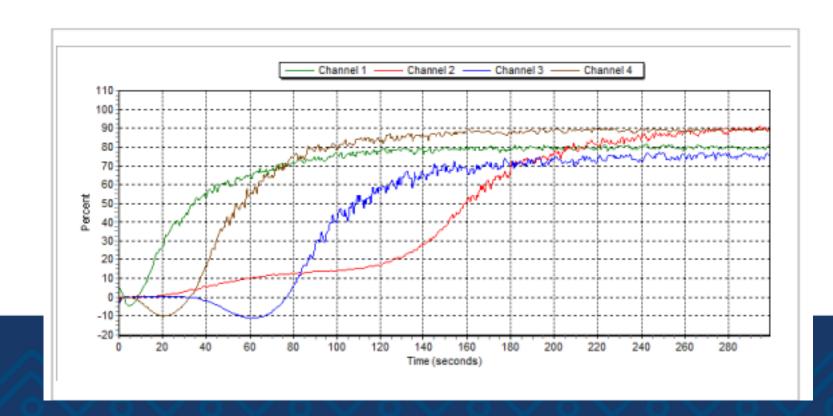
Chnl	Reag		Lot No.		Reag. Conc.	Units	PPP	PRP
1	Adenosine	Diphosphate	551189		5	μM/mL	0,07	0,801
2	Epinephrin	iė	551170		10	µM/mL	0,074	0,741
3	Collagen		551188		2	µg/mL	0,067	0,784
4	Arachidoni	ic Acid	5364		1,5	μg/mL	0,06	0,746
Chnl	Curve No.	Max %	TMax	Slope	Slope2	Lag	% Area	Under Curve
1	273	81,6	242	143,9		4,7		
2	274	91,1	294	15,6	74,1	4,7		
3	275	77,2	248	120,3		61,1		
4	272	89,9	279	149,9		20,4		

Comentario

Agregación plaquetaria:

ADP 5.0 µM/mL : 81.6 % V.R : 50 - 100 % EPN 10.0 µM/mL : 91.1 % V.R : 50 - 100 % COLL 2.0 µg/mL : 77.2 % V.R : 50 - 100 % ACA 1.5 µg/mL : 89.9 % V.R : 50 - 100 %

Bacterióloga Martha Gamboa T.p. 51.905.806



Este no es un patrón normal de ristocetina



LABORATORIO DE REFERENCIA EN HEMOSTASIA Y HEMATOLOGIA H & H Lab S.A.S.

Carrera 16 No. 80-77 Cons 208/209 Tel.: 3519011 Cel: 3106748067 E-mail: hyhlabsas@gmail.com Pàgina web: www.hyhlab.com

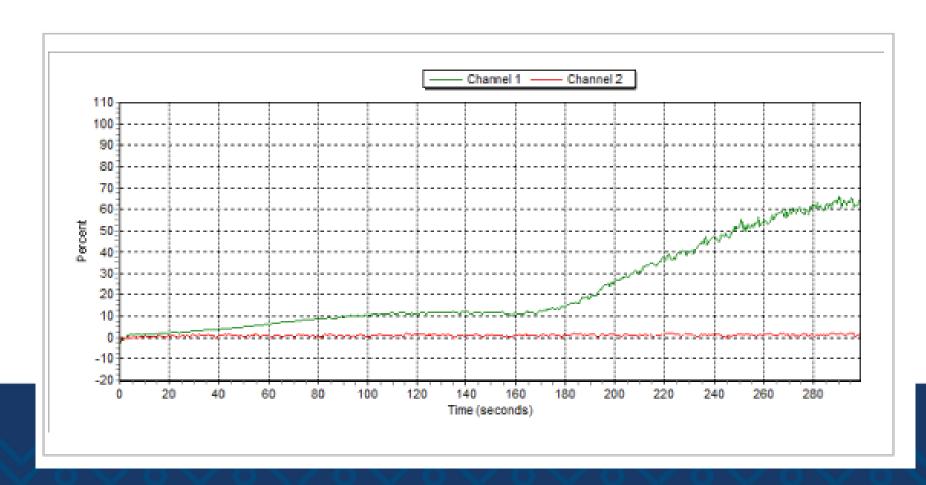
Chnl	Reag		Lot No).	Reag. Conc.	Units	PPP	PRP
1	Ristocetin		5199		1,20000004768372	mg/mL	0,07	0,763
2	Ristocetin		5199		0,5	mg/mL	0,074	0,745
Chnl	Curve No.	Max %	TMax	Slope	Slope2	Lag	% Area	Under Curve
1	276	66,6	300	38,7		0		
2	277	2,2	223	3,0		4,6		

Comentario:

Agregación plaquetaria con Ristocetina (RIPA):

RIST 1.2 mg/mL : 66.6 % V.R : 50 - 100 % RIST 0.5 mg/mL : 2.2 % V.R : 0 - 10 %

Bacterióloga Martha Gamboa T.p. 51.905.806





Curva de agregación estudio de HIPERAGREGABILIDAD





Curvas de agregación plaquetaria SPP negativas



LABORATORIO DE REFERENCIA EN HEMOSTASIA Y HEMATOLOGIA H & H Lab S.A.S.

Carrera 16 No. 80-77 Cons 208/209 Tel.: 3519011 Cel : 3106748067 E-mail: hyhlabsas@gmail.com Pàgina web : www.hyhlab.com

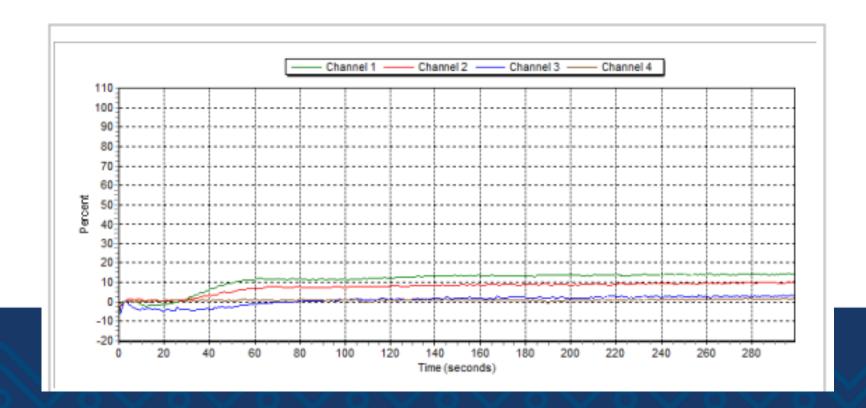
Chnl	Reag		Lot No		Reag. Conc.	Units	PPP	PRP	
1	Epinephrin	e	551170)	11	µM/mL	0,123	0,917	
2	Epinephrin	ie	551170)	1,10000002384186	µM/mL	0,112	0,925	
3	Epinephrin	ië	551170)	0,600000023841858	µM/mL	0,097	0,861	
4	Epinephrin	ie	551170)	0	µM/mL	0,104	0,871	
Chnl	Curve No.	Max %	TMax	Slope	Slope2	Lag	% Area	Under Curve	
1	477	14,6	250	27,0	3,5	12,2			
2	478	10,3	299	13,1	2,4	0			
3	479	3,6	299	7,3	3,2	19,4			
4	480	2,0	277	2,0	3,7	190,1			

Comentario:

Agregación plaquetaria con Epinefrina (EPN) VR % EPN 11.0 μM/mL : 14.6 % 39 - 87 % EPN 1.1 μM/mL : 10.3 % 15 - 55 % EPN 0.6 μM/mL : 3.6% 9 - 35 %

No se observa hiperagregabilidad plaquetaria con EPN en ninguna concentración, paciente con ASA.

Bacterióloga Gloria Ramos





LABORATORIO DE REFERENCIA EN HEMOSTASIA Y HEMATOLOGIA H & H Lab S.A.S.

Carrera 16 No. 80-77 Cons 208/209 Tel.: 3519011 Cel: 3106748067 E-mail: hyhlabsas@gmail.com Pàgina web: www.hyhlab.com

Chnl	Reag		Lot No.		Reag. Conc.	Units	PPP	PRP
1	Adenosine	Diphosphate	551189		2,29999995231628	µM/mL	0,119	0,96
2	Adenosine	Diphosphate	551189		1,20000004768372	µM/mL	0,107	0,969
3	Adenosine	Diphosphate	551189		0,600000023841858	µM/mL	0,096	0,93
4	Adenosine	Diphosphate	551189		0	µM/mL	0,104	0,895
Chnl	Curve No.	Max %	TMax	Slope	Slope2	Lag	% Area	Under Curve
1	473	30.4	42	100.8		62		

				a.apa	0.0000	
1	473	30,4	42	100,8		6,2
2	474	7,3	31	36,0		144,2
3	475	1,0	3	2,7		63,7
4	476	1,0	300	2,8		56,1

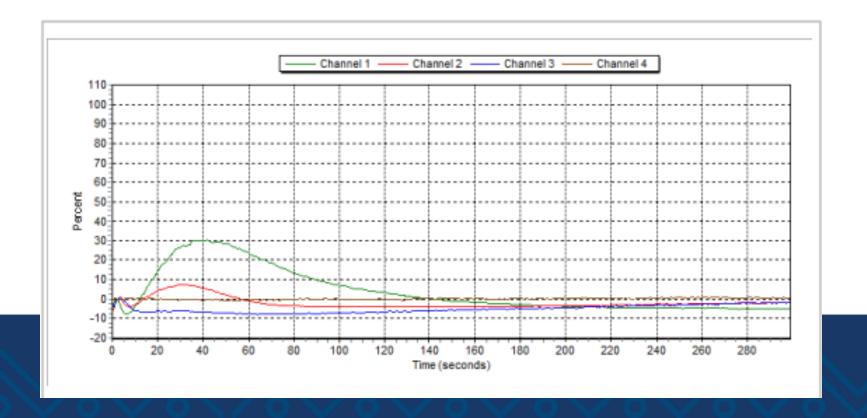
Comentario

Agregación plaquetaria con ADP VR %
ADP 2.3 μM/mL : 30.4 % 28 - 75 %
ADP 1.2 μM/mL : 7.3 % 15 - 51 %
ADP 0.6 μM/mL : 1.0 % 10 - 36 %

No se observa hiperagregabilidad plaquetaria con ADP en ninguna concentración, pte con ASA.

Bacterióloga Gloria Ramos

T.p. 59819156



Curva de Hiperagregabilidad plaquetaria SPP ADP y EPN



LABORATORIO DE REFERENCIA EN HEMOSTASIA Y HEMATOLOGIA H & H Lab S.A.S.

Carrera 16 No. 80-77 Cons 208/209 Tel.: 3519011 Cel: 3106748067 E-mail: hyhlabsas@gmail.com Pàgina web: www.hyhlab.com

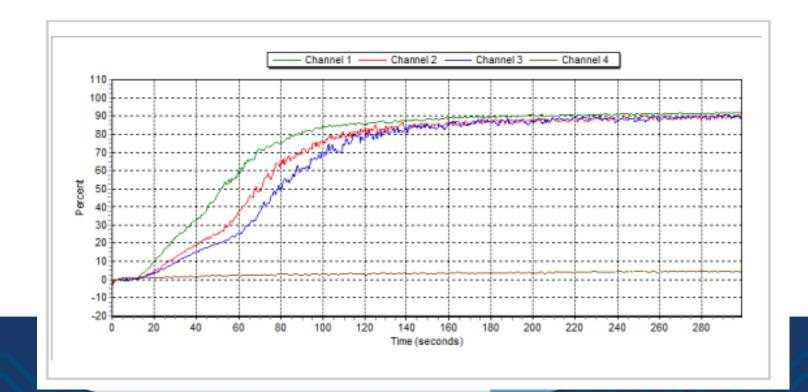
Chnl	Reag		Lot No).	Reag. Conc.	Units	PPP	PRP	
1	Epinephrir	ne	551170	0	11	µM/mL	0,106	1,06	
2	Epinephrir	ne	551170	0	1,10000002384186	µM/mL	0,097	1,073	
3	Epinephrir	ne	551170	0	0,600000023841858	µM/mL	0,095	1,041	
4	Epinephrin	ne	551170	0	0	µM/mL	0,098	1,054	
Chnl	Curve No.	Max %	TMax	Slope	Slope2	Lag	% Area	Under Curve	
1	718	92,0	298	85,0	26,4	6,7			
2	719	90,5	288	85,0	19,7	3,1			
3	720	90,8	291	86,1	30,6	9,4			
4	721	4,9	253	2,9	1,6	0			

Comentario:

Agregación plaquetaria con Epinefrina (EPN) VR % EPN 11.0 μM/mL : 92.0 % 39 - 87 % EPN 1.1 μM/mL : 90.5 % 15 - 55 % EPN 0.6 μM/mL : 90.8 % 9 - 35 %

Se observa hiperagregabilidad plaquetaria con EPN en las tres concentraciones.

Bacterióloga Martha Gamboa T.p. 51.905.806





LABORATORIO DE REFERENCIA EN HEMOSTASIA Y HEMATOLOGIA H & H Lab S.A.S.

Carrera 16 No. 80-77 Cons 208/209 Tel.: 3519011 Cel: 3106748067 E-mail: hyhlabsas@gmail.com Pàgina web: www.hyhlab.com

Chnl	Reag		Lot No.		Reag. Conc.	Units	PPP	PRP
1	Adenosine	Diphosphate	551189		2,29999995231628	µM/mL	0,099	1,09
2	Adenosine	Diphosphate	551189		1,20000004768372	µM/mL	0,103	1,076
3	Adenosine	Diphosphate	551189		0,600000023841858	µM/mL	0,086	1,03
4	Adenosine	Diphosphate	551189		0	µM/mL	0,093	1,035
Chnl	Curve No.	Max %	TMax	Slope	Slope2	Lag	% Area	Under Curve
1	714	91,6	294	153,2		4,7		
2	715	90,1	280	99,4		4,2		
3	716	91,0	297	67,7		5,7		
4	717	4.1	262	2,9		0		

Comentario:

 Agregación plaquetaria con ADP
 VR %

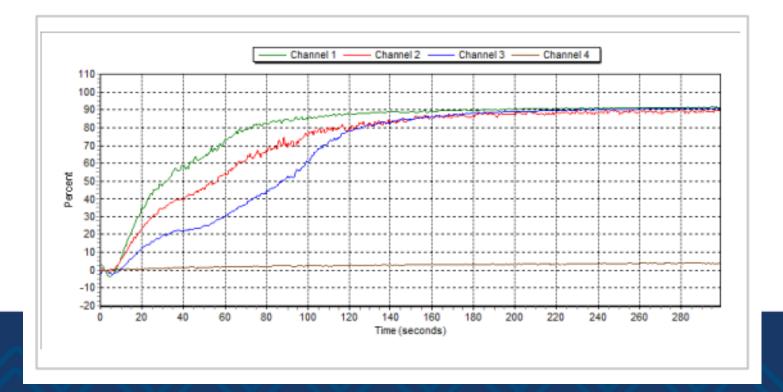
 ADP 2.3 μM/mL
 : 91.6 %
 28 - 75 %

 ADP 1.2 μM/mL
 : 90.1 %
 15 - 51 %

 ADP 0.6 μM/mL
 : 91.0 %
 10 - 36 %

Se observa hiperagregabilidad plaquetaria con ADP en las tres concentraciones.

Bacterióloga Martha Gamb T.p. 51,905,806





Gracias por su atención y atenta a las preguntas del auditorio

www.hyhlabsas.com

hyhlabsas@gmail.com

direccioncientificahyh@gmail.com

Gloriaramoshmc@gmail.com

Movil: +057 300 2530421







INTRODUCCIÓN

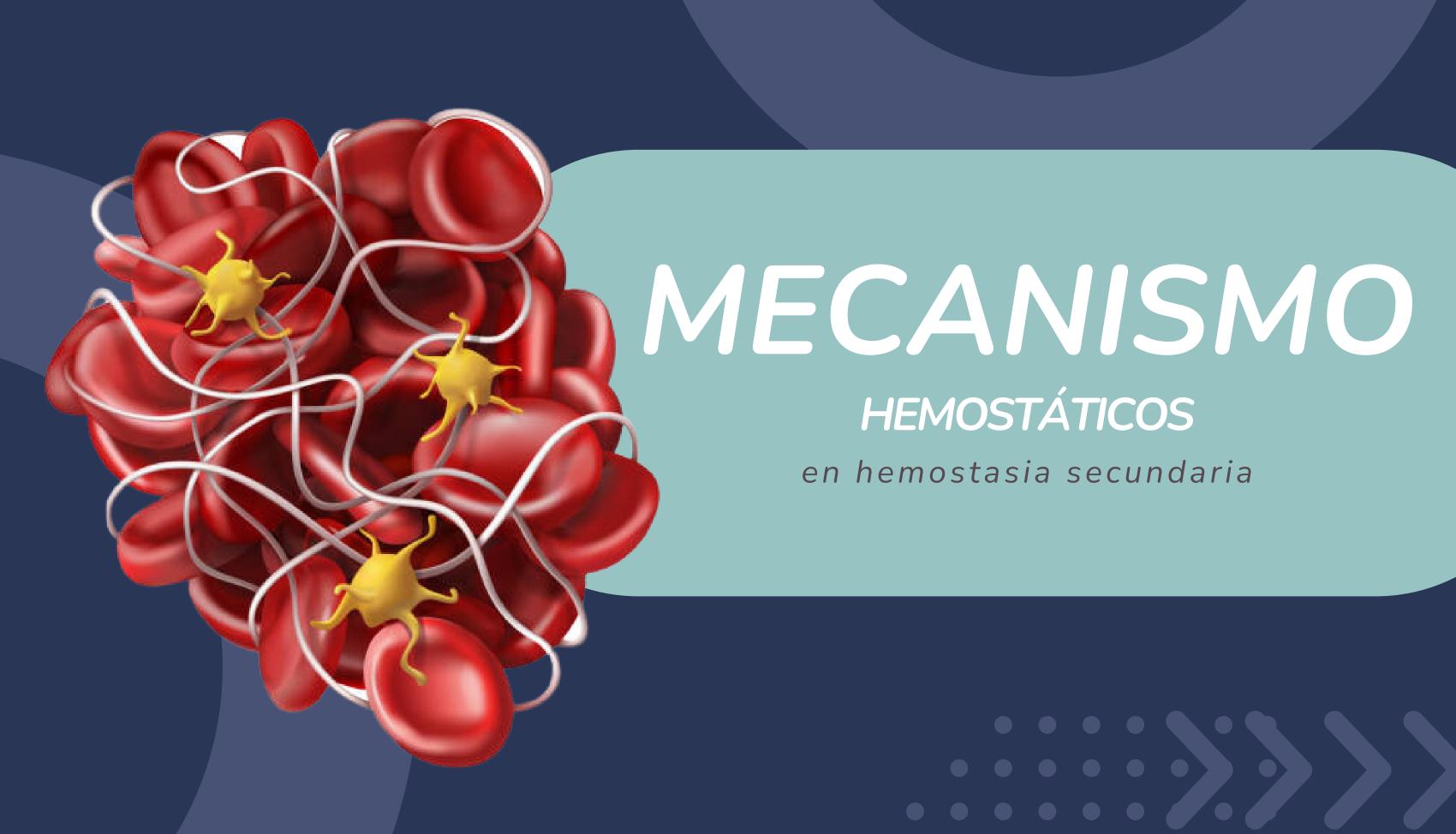
- Conciencia
- Identificación
- Corrección
- Obtención de resultados
- SER MULTIPLICADORES



FASE PREANALITICA

En las pruebas de Hemostasia

- Los errores en las variables preanalíticas afectan el resutado de las pruebas de coagulación (todas las pruebas del laboratorio en general)
- Para obtener una excelente precisión y exactitud, es importante conocer e identificar esas variables y su efecto sobre el mecanismo hemostático
- El avance en los equipos electrónicos actuales garantizan la reproduccibilidad y sensibilidad de la FASE ANALÍTICA, lo que implica una mayor dependencia de la CALIDAD DE LA MUESTRA
- Mantenimientos (preventivo y correctivo) y control de los equipos
- •Cerca del 70% de los errores del laboratorio ocurren por errores en la fase preanalítica



PROBLEMAS FASE PRE-ANALÍTICA No. 1

- Faltas y/o errores en la identificación del paciente
- Tiempo y colocación inadecuada del torniquete
- Tipo de torniquete (torniquete plano)
- Tamaño inadecuado de la aguja
- Dificultad en la punción de la vena
- Llenado inadecado del tubo sangre/anticoagulante
 9:1
- Mezcla inapropiada de Sangre-anticoagulante
- Tipo de punción: Tubo al vacío, doblepunción, jeringa, volumen final de la muestra
- Uso incorrecto en el orden de los tubos en la toma de las muestras
- Tipo de anticoagulante

PROBLEMAS FASE PRE-ANALITICA No. 2

- Errores cuantitativos: Inapropiada relación sangre/anticoagulante.
- Hematocritos: Altos o Bajos.
- Errores cualitativos:Hemólisis exógena Formación de coágulos
- Después de la recolección influye:
 Centrifugación: velocidad, tiempo y temperatura
- El transporte: tiempo y temperatura Separación: plama pobre en plaquetas Almacenamiento: procesar o conservar

USO ADECUADO E INADECUADO

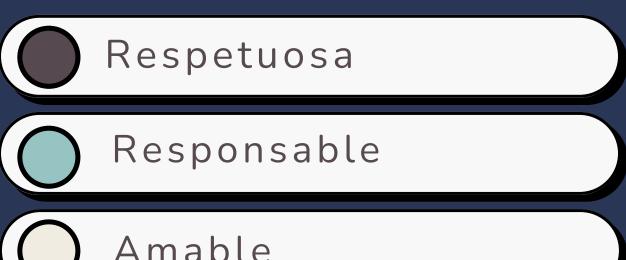
Del torniquete





CUALIDADES

Flebotimista







CAPACITACIÓN

Flebotomista

- •Un flebotomista es clave en la fase preanalítica, para la buena práctica de la toma de las muestras, separación, manejo, transporte y conservación de las mismas.
- •El flebotomista debe ser personal del laboratorio con excelente entrenamiento y educación continua en esta área.
- •Si el flebotomista es externo al laboratorio (personal de diferentes secciones, salas de los hospitales o de las clínicas o laboratorios externos), éste debe aportar, tutorear y supervisar toda la información requerida para el buen desempeño de esta delicada actividad.



ORDEN MÉDICA

Paciente

- Identificación / nombres apellidos
- Doc identificación : CC / historia clínica / Pasaporte
- Ubicación: ambulatorio / Hospitalizado (sala, piso, nº cama)
- Edad / fecha nacimiento Sexo / raza
- Exámenes solicitados
- Medicamentos en uso
- Nombre del médico
- CÓDIGO DE BARRAS / BRAZALETE DE IDENTIFICACIÓN

IDENTIFICACIÓN

Inequivoca











HISTORIA

CLINICA DEL PACIENTE

en hemostasia secundaria

HISTORIA CLINICA

Paciente

- •Patología personal y/o familiar de hemorragia o trombosis
- Apariencia, frecuencia y causa específica de las hemorragias
- •Uso de medicamentos (ASA, otros antiagregantes, anticoagulantes, anticonceptivos, Desmopresina, Terapia de reemplazo)
- Medicamentos bioenergéticos o naturistas, bebidas energizantes, café??
- Cirugía previas, procedimientos odontológicos, historia gineco obstétricas
- Embarazo (altera el Mecanismo Hemostático)
- Preparación del paciente (Actividad física)
- Dieta (ayunas), licor afectan muchas de las pruebas hemostáticas Estress (niños)



TOMA DE MUESTRAS No. 1

- Flebotomista siempre requiere guantes (Bioprotección).
- Limpieza del sitio seleccionado para la punción, secado de la solución antiséptica antes de colocar el torniquete.
- La duración de la aplicación del torniquete, PLANO, no debe ser superior a "1 minuto": Hemólisis, hemoconcentración, Liberación de las proteinas de las células endoteliales, Acumulación de lactato disminución del pH sanguíneo
- Aumento de factores : FVIII; FWv y tPA
- La punción debe ser directamente en una vena periférica

TOMA DE MUESTRAS No. 2

- El diámetro de la aguja recomedada es 19 -21 en adultos, 23 en niños
- NO tomar muestras de lineas contaminadas con heparina o utilizadas para venoclisis.
 (Hemodilución contaminación).
- Anticoagulante indicado es CITRATO DE SODIO 3.2% (105 – 109 mM), con fecha de caducidad vigente.
- No usar tubos que contengan: Heparina o EDTA u otros anticoagulantes.
- Mezclar el contenido del tubo, suavemente por inversión de 8 – 10 veces.

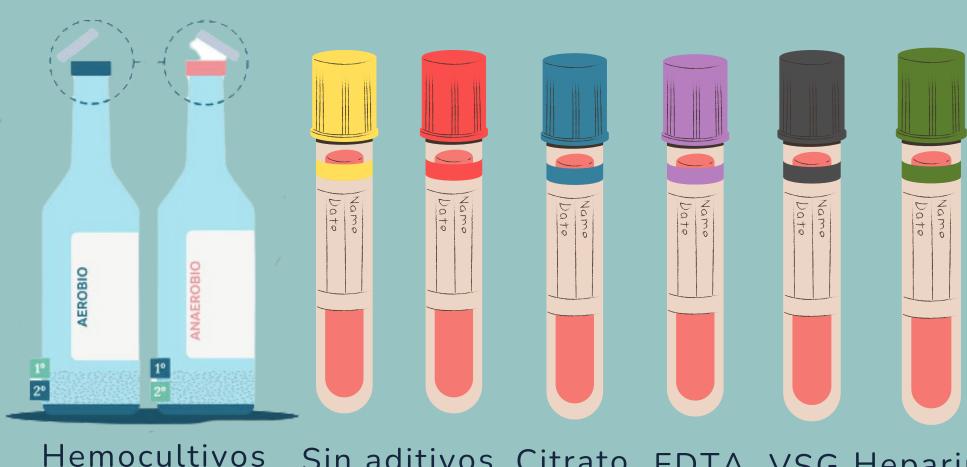
TOMA DE MUESTRAS No. 3

Orden de toma de la muestra:

- El tubo tapa azul debe ser el primero
 (punción limpia)
- Serie de tubos: Se deben de tomar primero los hemocultivos, el tubo con citrato debe tomarse antes de los tubos con algún tipo de anticoagulantes (EDTA o Heparina) o procoagulante /trombina, o después de un tubo sin aditivo

ORDEN ADECUADO DE LOS TUBOS

¿ Qué tubo lleno primero?



emocultivos Sin aditivos Citrato EDTA VSG Heparina
3,2%
litio

TOMA DE MUESTRAS No.4

- La proporción indicada sangre/anticoagulante DEBE SER EXACTA 9:1
- 9 partes de sangre y una parte de anticoagulante
- Llenado del turbo: Se aceptan tubos >/= 90% del llenado
- Valores de hematocritos altos > 55%
 Corrección para muestras con
- hematocritos altos.

V = 0.00185 XC(100-HTO)

V= volumen de anticoagulante

C=volumen de sangre

TABLA DE CORRECCIÓN DEL HEMATOCRITO

Volumen de sangre y anticoagulante necesario para muestras con anomalias en el hematocrito

Hematocrito	Volumen de anticoagulante	Volumen de sangre
25%-55%	0,5 ml	4,5 ml
20%	0,7 ml	4,3 ml
60%	0,4 ml	4,6 ml
70%	0,25 ml	4,75 ml
80%	0,2 ml	4,8 ml

Kamal AH. et al How to interpret and pursue an abnormal prothrombin time, Activated partial thromboplastin time, and bleeding time in adults. Mayo Clin Proc. 2007;82(7):843-87

TOMA DE MUESTRAS Nº.5

Corrección Hematocrito

- •NOTE: A hematocrit value >55% may lead to spurious coagulation results. The citrate anticoagulant distributes only in the plasma and not into the blood cells. For this reason, plasma citrate concentration will be increased if the patient's hematocrit is greater than 55%, potentially leading to spuriously prolonged PT and aPTT results, as well as erroneous results for other calcium-dependent clotting tests such as clottable protein C/protein S and factor assays.
- •If possible, a new phlebotomy should be performed, using a reduced volume of sodium citrate, adjusted for the elevated hematocrit. Conversely, there are no current data to support a recommendation for adjusting the citrate concentration in the presence of severe anemia (hematocrit <20%). CAP 2022



MANEJO, TRANSPORTE

YALMACENAMIENTO

Muestras

MANEJO DE TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO

- Chequear volumen de llenado y descartar coágulos.
- Centrifugar las muestras para obtener plasma pobre en plaquetas (PPP) <10.000 /Ul, (máximo 1H).
- Transportadas a temperatura ambiente (gradillas - vertical)
- El tiempo de centrifugación es de acuerdo al tipo de centrifuga (velocidad y/o gravedades).
- Temperatura de la centrífuga 15 25 °C
- Después de centrifugada chequear: hemólisis, ictericia o lipemia (Ubicacióndel Sticker)
- •El PPP se congela en tubos de polipropileno

MANEJO DE TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO

- El plasma congelado a -70°C se conserva por periodos > 6 meses (Lab de investigación), a -20°C puede ser usado en un periodo de < 6 semanas.
- Muestras de plasma remitidas o para remitir se transportan en hielo seco,.
- Las muestras se deben descongelar en baño húmedo a 37°C por 5 min y mezclar por inversión antes de realizar las pruebas.
- Para evaluar la heparina no fraccionada (Actividad anti F Xa), se deben centrifugar y procesar dentro de 1 hora después de tomada.
- Para Tiempo de trombina, Anticoagulante Lúpico, Prot C/S,
 FV, FVIII e inhibidores se conservan en las mismas condiciones que las muestras para el PTTa.

MANEJO, TRANSPORTE

Y almacenamiento

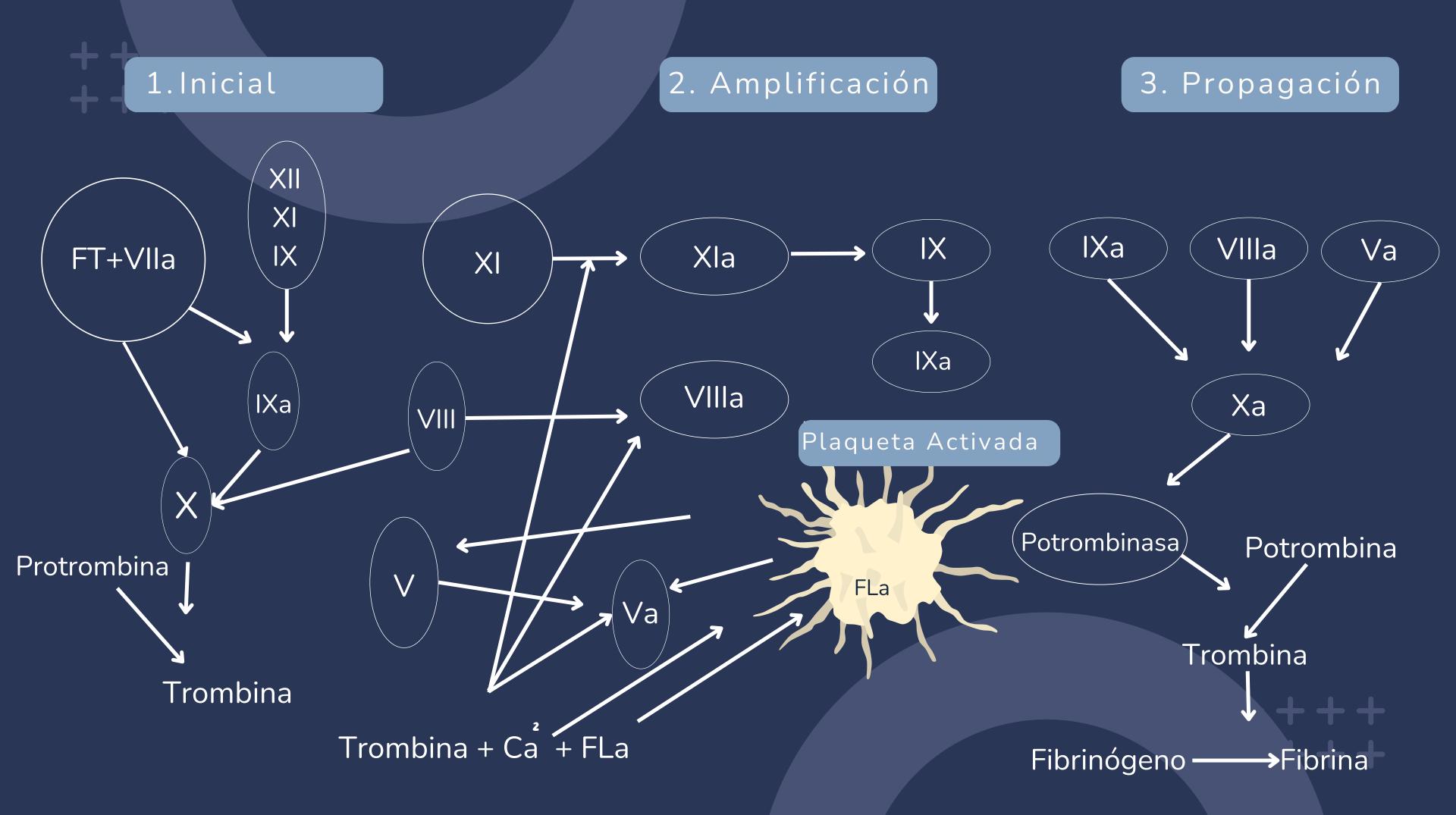
- Tiempo de protrombina: (TP) Plama pobre en plaquetas, Muestra centrifugada sin separar el paquete globular
- Se pueden conservar a temperatura ambiente 18 -24°C y procesar durante un período tiempo NO superior a 24 horas.
- Tiempo de Tromboplastina parcial Activado.(PTTa) Plasma pobre en plaquetas Muestra centrifugada sin separar del paquete globular
- Se conserva a temperatura ambiente 18 -24°C por 4 horas o refrigerado entre 2 8°C y procesarlo en un tiempo NO superior a 4 horas



OTROS CONTROLES

Preanaliticos

- •Realizar y registrar del mantenimiento de los equipos antes de procesar las muestras de los pacientes.
- Procesar y registrar los diferentes niveles de los C Comerciales y el pool local, antes de las muestras de los pacientes.
- •Control y Registro periódico del recuento de plaquetas del ppp (< 10.000/ul).
- •Control y registro de la temperatura de las cavas.
- •Control y registro de la calidad del agua utilizada.
 - Calibrar y registrar periodicamente las centrífugas y las pipetas (Ingeniero).





EFECTO DE LOS ERRORES PRE-ANALITICOS

- Muestra hemolizada: Por la liberación de las proteinas de la membranas celulares hay disminución (TP/PTTa) y aumenta los F VIII, FVW y tPA .Centrifugar las muestras para obtener plasma pobre en plaquetas (PPP) <10.000 /Ul, (máximo 1H).
- Llenado inadecuado del tubo: Altera la relación sangre:anticoagulante y las pruebas que dependen de Calcio: TP, PTTa, Prot C/S, FACTORES.
- Muestras coaguladas: Por consumo Fibrinógeno, aumento del TP y PTTa y disminución de los diferentes factores.
- Si el plasma no es pobre en plaquetas:

Se altera las pruebas PTTa y Anticoagulante Lúpico: (Falso negativo).

Control de la Heparina no fraccionada: consumo o inactivación de la heparina.

EFECTO DE LOS ERRORES PRE-ANALITICOS

- Error en el cálculo del INR: El ISI se debe ajustar por cambio de reactivo, lote o instrumento.
- Corroborar el valor del TP normal para este cálculo.
- Error en el INR: Trombosis o hemorragia por alteración en la dosis del anticoagulante.
- Periodicamente corroborar el cálculo electrónico del INR que realiza el equipo.
- Pool de plasmas para la prueba de las mezclas o correcciones: No de un solo paciente

Possible causes of a prolonged aPTT or PT due to preanalytical or patient-related issues

Category	
Patient selection	Anticoagulants (including vitamin K antagonists)
	Liver disease
	Bleeding disorders (acquired or inherited)
Specimen	Poor venipuncture
collection	Inadequate anticoagulant
	Collection in wrong tube
	Improper fill volume
Specimen	Specimen too old
transport	Improper temperature for transport
	Inappropriate handling of specimen
Specimen pro- cessing &	Centrifugation speed and time inappropriate
storage	Stored at warmer than recommended temperature
	Stored longer than recommended
Other	Volume expanders (e.g., crystalloids)
	Antibiotics (lipoglycopeptides)
	Autoimmune disorders
	Hydroxy-ethyl starch, hematin, sumatin, taularidine
	Systemic fibrinolytic drugs (e.g., urokinase)

Possible causes of a shortened aPTT or PT due to preanalytical or patient-related issues

Category	
Patient	Acquired active ongoing coagulation
selection	Receiving replacement therapy (e.g., FFP, cryoprecipitate, factor replacement)
	Receiving nonreplacement therapy (e.g., HemLibra, NovoSeven)
Specimen collection	Poor venipuncture
	Incomplete mixing of tube
	Inadequate anticoagulant
	Collection in wrong tube
Specimen	Specimen too old
transport	Improper temperature for transport
	Inappropriate handling of specimen
Specimen processing & storage	Centrifugation speed and time inappropriate
	Stored at warmer than recommended temperature
	Stored longer than recommended
	Too many residual platelets after freezing (aPTT)



A TENER EN CUENTA

Common ordering problems in hemostasis testing

Desired test	Mistaken order with similar test name	Potential issue
Factor V Leiden	Factor V	False-negative diagnosis of hereditary thrombophilia
Prothrombin G20210A genotyping	Prothrombin (factor II)	False-negative diagnosis of hereditary thrombophilia
Anti-Xa assay for heparin activity	Factor X	Factor X does not measure heparin level
Factor XIII	Factor XIII Val-34-Leu mutation	The mutation analysis does not test for factor XIII activity or bleeding risk
Antiplatelet factor 4 for heparin- induced thrombocytopenia (HIT)	Platelet factor 4 (PF4)	PF4 is a research ELISA assay measuring PF4 levels, not for diagnosis of HIT



Fase preanalítica en estudios de trombofilias







Introducción

Después del descubrimiento de los factores de riesgo hereditarios en las enfermedades tromboembólicas, las pruebas de trombofilia han ido tomando un papel más importante, por lo que sus solicitudes han ido de forma creciente.

Estas pruebas tiene un alto costo y varias cuestiones metodológicas a considerar tanto en la fase analítica como en la preanalítica, para no interferir con los resultados y su interpretación.



Contenido temático

- 1. Conceptos generales
- 2. Algoritmo diagnóstico
- 3. Clasificación de las trombofilias
- 4. Síndrome antifosfolípido
- 5. Antitrombina III
- 6. Proteína C y S
- 7. Factor V de Leiden
- 8. Recomendaciones guías ISTH
- 9. Conclusiones







Conceptos generales

Trombofilia

 Un trastorno trombofílico es una condición hereditaria o adquirida que se relaciona con un mayor riesgo de trombosis venosa o arterial.

Trombofilias heredadas

 Se estima que la heredabilidad del TEV, es decir, la característica genética, llega al 60%. Se conocen varios defectos determinados genéticamente asociados con la trombofilia, vinculados colectivamente con al menos un tercio de los casos de TEV.

Trombofilias adquiridas

• El Síndrome Antifosfolípido es un ejemplo de trombofilia adquirida que aumenta el riesgo de complicaciones en el embarazo.



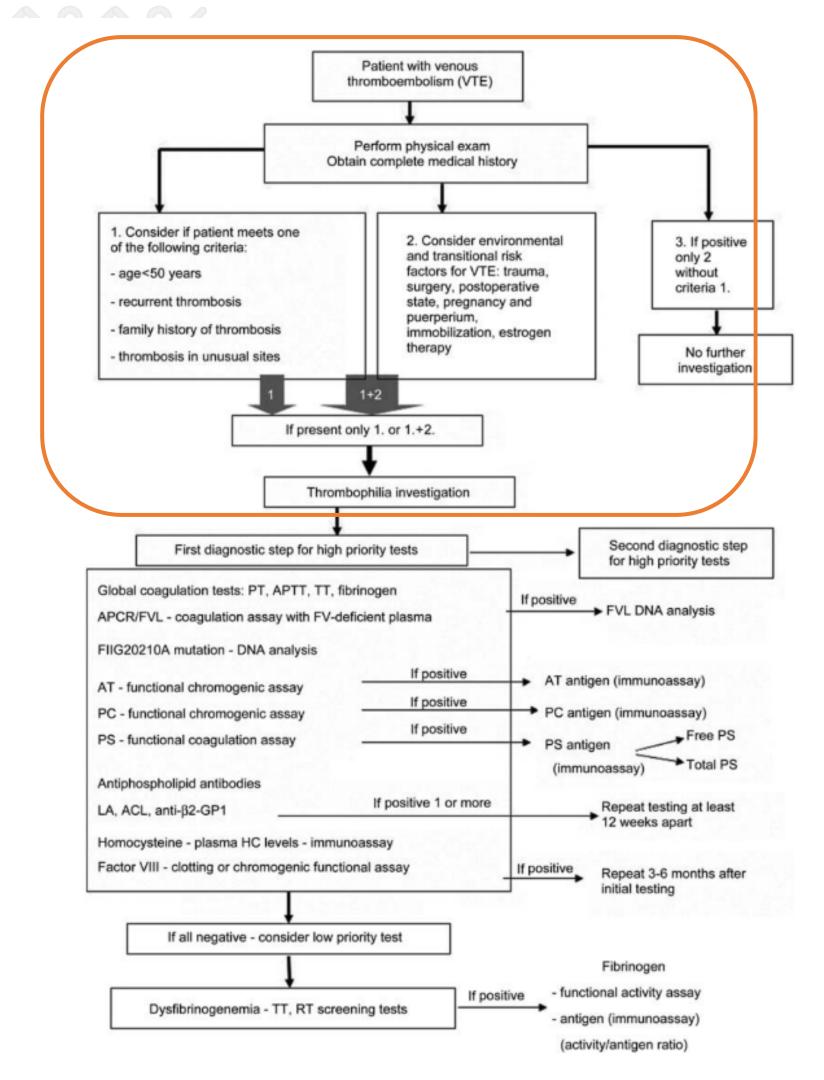




Algoritmo diagnóstico

Clin Chem Lab Med 2010;48(Suppl 1):S27–S39

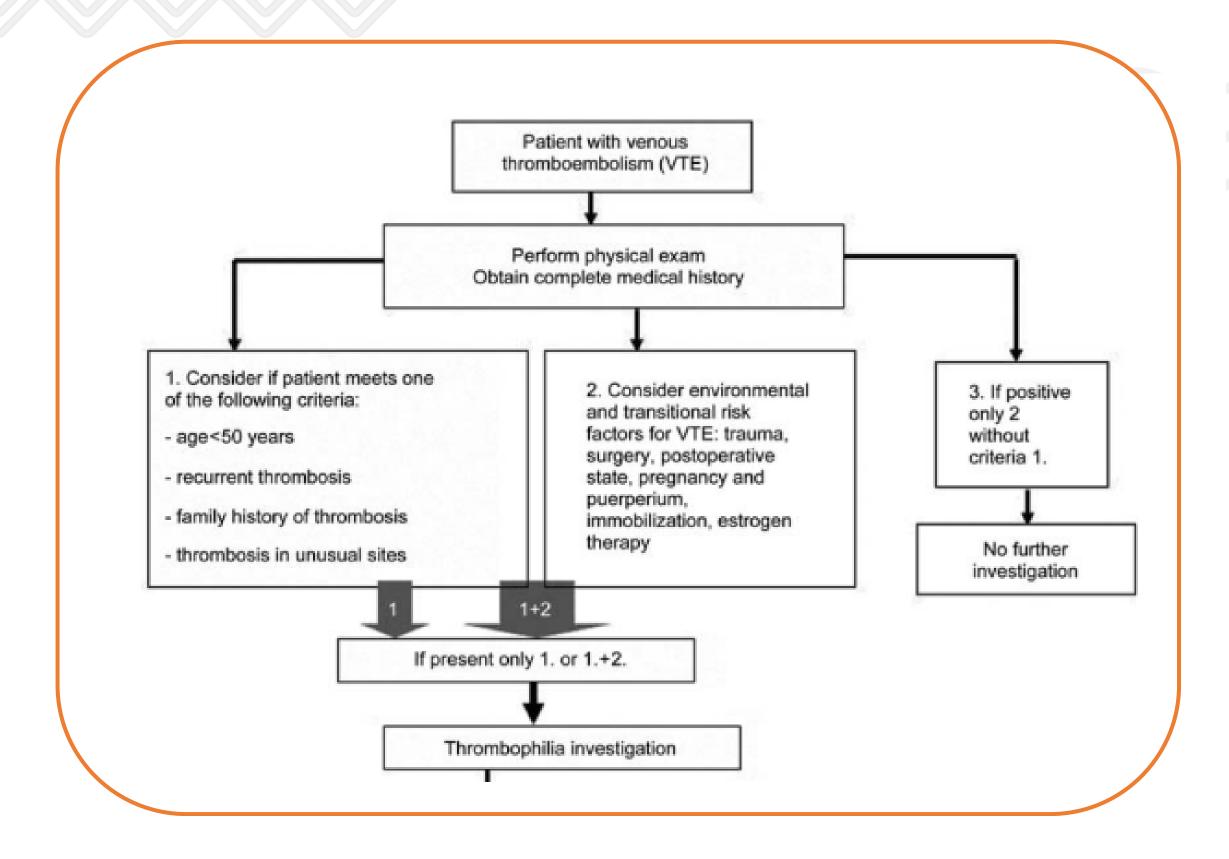
m 🔎







Algoritmo diagnóstico



Clin Chem Lab Med 2010;48(Suppl 1):S27–S39







Trombofilias heredadas

Table 1 Hereditary thrombophilia, prevalence, and relative risk of developing a first or recurrent VTE (modified after Stevens et all and Mannucci and Franchini6)

Thrombophilia	Prevalence in the general population (%)	Relative risk of first VTE ^a	Prevalence in unselected VTE patients (%)	Relative risk of VTE recurrence ^a	Relative risk of first VTE among OC users ^b	Relative risk of first VTE during pregnancy ^c
FVL, heterozygous	2–7	4–6	20	1.6	2–15	8
FVL, homozygous	0.06-0.25	4-41	1.5	1.2-2.7	(?)	34
PT G20210A, heterozygous	1–2	3–5	6	1.5	4–9	7
PT G20210A, homozygous	Rare	(?)	<1	(?)	(?)	26
FVL/PT G20210A compound heterozygous	0.1	11–36	(?)	1.0-4.8	4–76	40
AT deficiency	0.02	13-59	1	2.5 (?)	1.4-116	4.7
PC deficiency	0.2-0.5	13-42	3	2.5 (?)	1.7-24	4.8
PS deficiency	0.1-0.7	26-55	2	2.5 (?)	1.4–17	3.2

Abbreviations: AT, antithrombin; FVL, factor V Leiden; OC, oral contraceptives; PC, protein C; PS, protein S; PT, prothrombin; VTE, venous thromboembolism.

Relative risks are compared with: athe general population; bnon-users of OC without thrombophilia; or cnon-pregnant women.

Birgit Linnemann, B, Hartm (2018). Laboratory Diagnostics in Thrombophilia, Hämostaseologie;39:49–61.







Trombofilias adquiridas

Table 2 Typical causes of acquired deficiencies of natural coagulation inhibitors

Acquired AT deficiency	Acquired PC deficiency	Acquired PS deficiency
Decreased hepatic synthesis Liver disease Malnutrition Neonatal status Increased excretion Nephrotic syndrome Irritable bowel disease Protein-losing enteropathy Diabetes mellitus Accelerated consumption Acute or recent VTE Sepsis, SIRS Disseminated intravascular coagulation Surgery, trauma, burns Severe bleeding Preeclampsia Pregnancy, post-partum period Haemolytic-uremic syndrome Drug-induced depietion Heparin Asparaginase Oral contraceptives Hormonal replacement therapy Extracorporeal circulation Plasmapheresis Haemodialysis Cardiopulmonary bypass Extracorporeal membrane oxygenation	Decreased hepatic synthesis Liver disease Vitamin K deficiency Malnutrition Neonatal status Accelerated consumption Acute or recent VTE Sepsis, SIRS Surgery Disseminated intravascular coagulation Drug-induced depletion Vitamin K antagonists Asparaginase Other causes HIV, infections Acquired inhibitor (autoantibody)	Decreased hepatic synthesis Liver disease Vitamin K deficiency Malnutrition Neonatal status Accelerated consumption Acute or recent VTE Sepsis, SIRS Disseminated intravascular coagulation Pregnancy Malignancies Increased binding to C4B BP Inflammation, acute phase reaction Inflammatory bowel disease Lupus erythematosus Drug-induced depletion Vitamin K antagonists Oral contraceptives Hormonal replacement therapy Asparaginase Other causes HIV Nephrotic syndrome

Abbreviations: AT, antithrombin; HIV, human immunodeficiency virus; PC, protein C; PS, protein S; SIRS, systemic inflammatory response syndrome; VTE, venous thromboembolism.

Birgit Linnemann, B, Hartm (2018). Laboratory Diagnostics in Thrombophilia, Hämostaseologie;39:49–61.







Síndrome antifosfolípido

Table 4 Definition of the antiphospholipid syndrome according to the revised Sapporo classification criteria 34

Clinical criteria		
Vascular thrombosis	One or more clinical episodes of arterial, venous, or small vessel thrombosis in any tissue or organ. Thrombosis must be confirmed by objective validated criteria (i.e. unequivocal findings of appropriate imaging studies or histopathology). For histopathologic confirmation, thrombosis should be present without significant evidence of inflammation in the vessel wall.	
Pregnancy morbidity	 One or more unexplained deaths of a morphologically normal foetus at beyond the 10th week of gestation One or more premature births of a morphologically normal neonate before the 34th week of gestation due to eclampsia, severe preeclampsia, or recognized features of placental insufficiency (c) Three or more unexplained consecutive spontaneous abortions before the 10th week of gestation, with maternal anatomic or hormonal abnormalities and paternal and maternal chromosomal causes excluded 	
Laboratory criteria		
Lupus anticoagulant	Lupus anticoagulant (LA) present in plasma on two or more occasions at least 12 weeks apart detected by prolongation of a phospholipid-dependent clotting time using different testing principles (e.g. DRVVT, lupus-sensitive aPTT)	
Anti-cardiolipin	Anti-cardiolipin (ACL) antibody of IgG and/or IgM isotype in serum or plasma present in medium or high titre (i.e. \geq 40 GPL or MPL, or greater than the 99th percentile) on two or more occasions at least 12 weeks apart measured by an ELISA-based immunologic assay	
Anti-b2GPI	Anti-β-2-glycoprotein I (anti-b2GPI) antibody of IgG and/or IgM isotype in serum or plasma (in titre greater than the 99th percentile) present on two or more occasions at least 12 weeks apart measured by an ELISA-based immunologic assay	

Abbreviations: aPTT, activated prothrombin time; dRVVT, diluted Russell viper venom time; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; IgG, immunoglobulin G; IgM, immunoglobulin M.

Birgit Linnemann, B, Hartm (2018). Laboratory Diagnostics in Thrombophilia, Hämostaseologie;39:49–61.







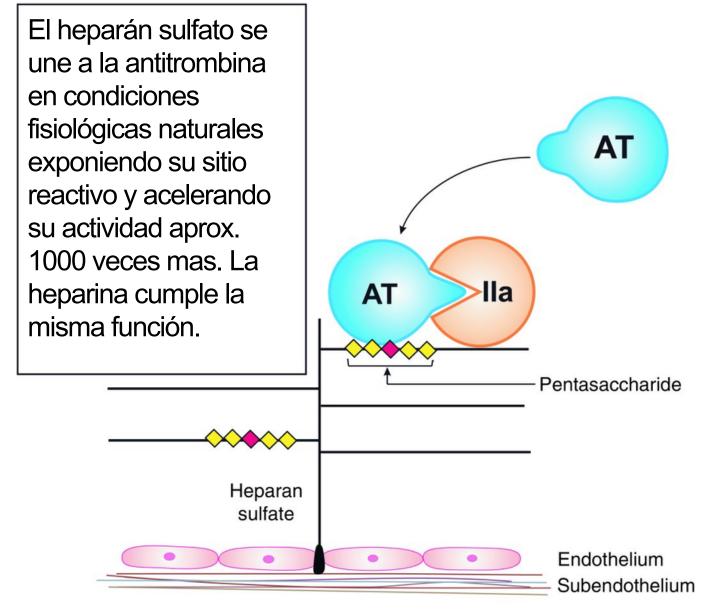
Antitrombina es un inhibidor serin proteasa (serpina) que inhibe principalmente a la trombina (factor IIa) y al factor Xa, pero también a otros factores como el VIIa, IXa, XIa, XIIa, calicreína, y la plasmina.

Antitrombina

Síntesis:

predominantemente en el hígado.

VM: aproximadamente 2,4 días

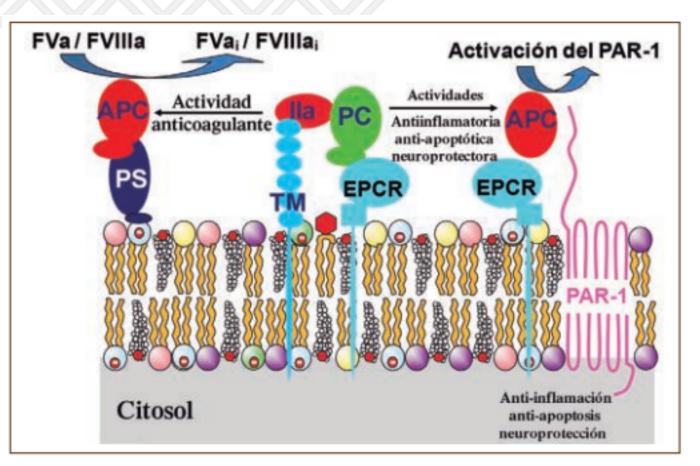


J Clin Invest. 2003; 111(7):952-954. https://doi.org/10.1172/JCI18234.





Proteína C y S



La trombina (IIa) y la proteína C (PC) se unen a sus receptores en la membrana de la célula endotelial, trombomodulina (TM) y receptor endotelial de la PC (EPCR). La formación de este complejo cuaternario aumenta más de 20.000 veces la activación de la PC.

La PC activada (APC) tiene dos caminos:

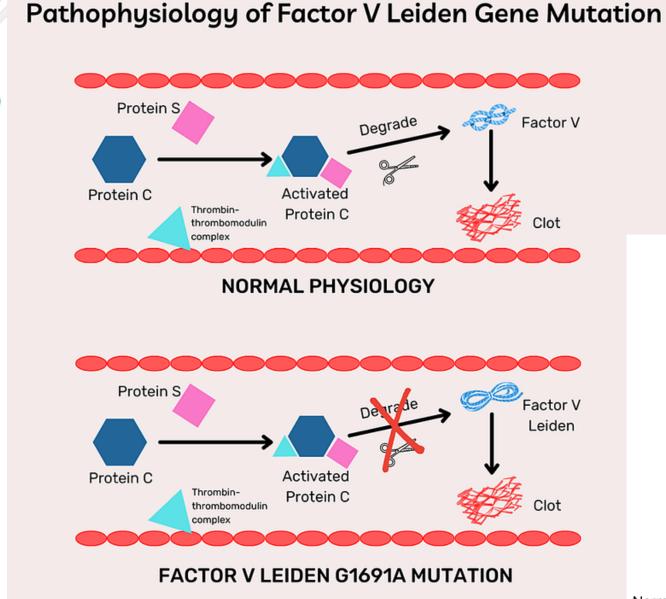
- 1. Unirse a la proteína S (PS), que la transporta a las superficies fosfolipídicas donde tienen lugar las reacciones de la coagulación, y allí inactiva por degradación proteolítica a los cofactores Va y VIIIa, inhibiendo la coagulación.
- 2. Mantenerse unida a su receptor y activar a un receptor activado por proteasas (PAR-1), iniciándose una serie de señales intracelulares que conducen a acciones antiinflamatorias, antiapoptóticas y neuroprotectoras.

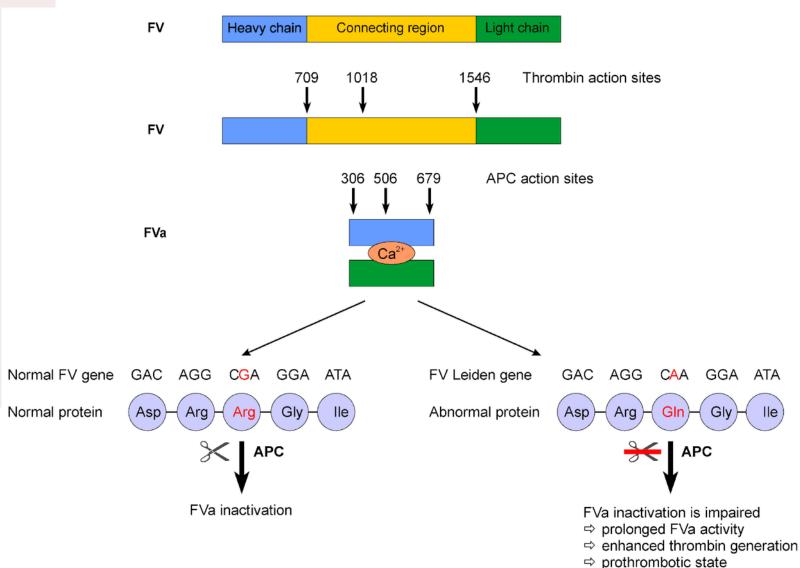
España F, F (2017). La proteína C: más que un anticoagulante natural, XXXIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia.





Factor V Leiden





Padda J, Khalid K, Mohan A, et al. (August 15, 2021) Factor V Leiden G1691A and Prothrombin Gene G20210A Mutations on Pregnancy Outcome. Cureus 13(8): e17185. doi:10.7759/cureus.17185

Badescu, M. C., Butnariu, L. I., Costache, A. D., Gheorghe, L., Seritean Isac, P. N., Chetran, A., Leancă, S. A., et al. (2023). Acute Myocardial Infarction in Patients with Hereditary Thrombophilia—A Focus on Factor V Leiden and Prothrombin G20210A. Life, 13(6), 1371. MDPI AG.





jth

Guidance from the Scientific and Standardization Committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis

Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection and interpretation

Katrien M. J. Devreese^{1,2} Philip G. de Groot³ Bas de Laat³ Doruk Erkan⁴ Emmanuel J. Favaloro⁵ | Ian Mackie⁶ | Marta Martinuzzo⁷ | Thomas L. Ortel^{8,9} Vittorio Pengo¹⁰ | Jacob H. Rand¹¹ | Armando Tripodi^{12,13} | Denis Wahl^{14,15} | Hannah Cohen^{16,17} (i)

Received: 27 November 2018 | Accepted: 5 June 2019

DOI: 10.1111/jth.14532

RECOMMENDATIONS AND GUIDELINES

Recommendations for clinical laboratory testing of activated protein C resistance; communication from the SSC of the ISTH

Gary W. Moore¹ | Elizabeth M. Van Cott² | Jacqueline A. Cutler³ | Michael J. Mitchell³ Dorothy M. Adcock⁴ | for the subcommittee on plasma coagulation inhibitors

Recommendations for clinical laboratory testing for protein C deficiency, for the subcommittee on plasma coagulation

Peter C. Cooper¹ | Anna Pavlova² | Gary W. Moore³ | Kieron P. Hickey¹ Richard A. Marlar⁴

Received: 12 April 2020 Accepted: 8 September 2020

inhibitors of the ISTH

RECOMMENDATIONS AND GUIDELINES

DOI: 10.1111/jth.15109

RECOMMENDATIONS AND GUIDELINES



Recommendations for clinical laboratory testing for protein S deficiency: Communication from the SSC committee plasma coagulation inhibitors of the ISTH

Richard A. Marlar¹ | Jana N. Gausman² | Hiroko Tsuda³ | Marian A. Rollins-Raval¹ | Herm Jan M. Brinkman⁴

Received: 23 July 2019 Accepted: 19 September 2019

DOI: 10.1111/jth.14648

RECOMMENDATIONS AND GUIDELINES



Recommendations for clinical laboratory testing for antithrombin deficiency; Communication from the SSC of the **ISTH**

Elizabeth M. Van Cott¹ | Christelle Orlando² | Gary W. Moore³ | Peter C. Cooper⁴ Piet Meijer⁵ | Richard Marlar⁶ | for the Subcommittee on Plasma Coagulation Inhibitors







Entrando en materia...



- Información clara y concisa del paciente sobre la anticoagulación u otro tratamiento que pueda interferir.
- Si es posible, la anticoagulación con DOAC se debería suspender para realizar las pruebas de perfil de trombofilias.
- La mayoría de los ensayos están diseñados para reducir o eliminar los efectos de los antagonistas de la vitamina K y la heparina, mientras que la interferencia de los DOACs depende de los reactivos y del nivel del fármaco.
- Variación interindividual en el metabolismo de los medicamentos.



- Los niveles de antitrombina, proteína C y proteína S son mas bajos en los recién nacidos y alcanzan niveles de referencia de adultos alrededor de los 6 meses de edad.
- En recién nacidos debe hacerse interpretación con valores de referencia establecidos de forma local.
- En embarazo, no es recomendable realizar estos ensayos y si es absolutamente necesario, se recomienda interpretar con precaución y repetir al menos 6 semanas después de la recuperación en el postparto e idealmente 3 meses después.
- Se recomienda repetir la prueba 4 semanas después de algún proceso patológico o consumo de anticoagulantes para evitar interferencias.



De acuerdo a la metodología que estemos utilizando:

- Prueba dependiente de fosfolípidos: plasma pobre en plaquetas (doble centrifugación a 2000 g x 15 min).
- Es recomendable realizar la medición de pruebas de coagulación básicas (TP y TTP): posibles interferencias por condiciones del paciente o condiciones de la muestra.
- Los ensayos basados en TTP pueden tener niveles falsamente reducidos si tiene niveles altos de FVIII.
- Los DOACs pueden causar una sobreestimación en ensayos basados en la coagulación pero no influyen en los ensayos cromogénicos.



De acuerdo a la metodología que estemos utilizando:

- Para aquellos ensayos basados en factores activados (Ila o Xa): los inhibidores directos de estos factores pueden alterar la metodología llevando a falsos positivos/falsos negativos.
- Los valores anormales deben repetirse después de al menos 4 semanas para su confirmación, idealmente, 12 semanas después.
- El análisis genético permite detectar las mutaciones directamente y no se ve afectado por las interferencias que afectan los ensayos fenotípicos. Sin embargo, no detecta alteraciones adquiridas.

Capacitación continua y actualizada







Muchas gracias









