

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA
CARRERA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
BIOQUÍMICA CLÍNICA**

**“Determinación de la enfermedad congénita de von Willebrand en adolescentes con
hipermenorrea en los Centros Médicos Especializados de la Cruz Roja Ecuatoriana
en la ciudad de Quito, 2020.”**

Daniela Carolina Bohórquez Beltrán

Directora: Mtr. Marcela Mardones Montanares

QUITO, 2021

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Daniela Carolina Bohórquez Beltrán, C.I. 172003591-2; autora del trabajo de graduación intitulado: “Determinación de la enfermedad congénita de von Willebrand en adolescentes con hipermenorrea en los Centros Médicos Especializados de la Cruz Roja Ecuatoriana en la ciudad de Quito, 2020.”, previa a la obtención del grado académico de BIOQUÍMICA CLÍNICA en la Facultad de Medicina-Carrera de Bioquímica:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.



Daniela Carolina Bohórquez Beltrán

CI. 172003591-2

DEDICATORIA

Con tanto amor,

A mi madre Ximena, que ha dado todo por mí. Su apoyo incondicional día y noche, para que yo sea lo que soy el día de hoy, quién día a día me ha enseñado el valor de la vida, el esfuerzo y el amor. Con su ejemplo y virtudes, me ha guiado por el camino de Dios, y este momento se lo debo a ella.

A mi abuelita Elena, madre abnegada, quien desde pequeña me ha inculcado los mejores valores y me ha enseñado a ser una mujer de bien, con sus sabios consejos y con su amor. Siempre pendiente y preocupada de mí hasta en el último detalle.

A mi abuelo Juan, un padre para mí, me ha enseñado que el amor verdadero supera cualquier obstáculo. Siempre atento a mí.

¡Todo esto es por ustedes!

Los amo.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente a Dios, por haberme iluminado y protegido con su manto divino día a día. Me ha hecho fuerte en los momentos más difíciles y con su gracia, ha permitido que cumpla todos mis objetivos para poder llegar hasta este momento.

A toda mi familia, al alegrarse por mí en cada logro cumplido, por siempre sentirse orgullosos de las cosas que emprendo. En especial a mis primos Paula y Juan, quienes con sus palabras de aliento y tomarme como su ejemplo han hecho en mí que mi esfuerzo sea aún mayor, los quiero pequeños. A mis tíos Juan y Paul, por cuidarme como una hija y entregarme sus vivencias con consejos éticos que me permitan ser una gran profesional.

A mi novio Juan Esteban, por entregarme su cariño día a día, y demostrarme que con paciencia y sabiduría pueden lograrse todas las cosas, por apoyarme en mis emprendimientos y alentarme en mis momentos buenos y en los no tan buenos, ¡sé que juntos vamos a llegar lejos!

Un agradecimiento especial a mi directora de tesis, Mtr. Marcela Mardones, quien me ha inculcado el amor y la curiosidad por la hematología, agradezco por todas las enseñanzas que para mí han sido muy valiosas y por este caminar juntas en la investigación.

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, que me abrió sus puertas para poder formarme como una gran profesional y en especial a todo el personal que forma parte de la carrera de Bioquímica Clínica, quienes han hecho que mi paso por la universidad sea mucho más bonito.

TABLA DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN.....	2
DEDICATORIA.....	3
AGRADECIMIENTOS.....	4
TABLA DE CONTENIDOS.....	5
LISTA DE TABLAS.....	8
LISTA DE GRÁFICOS.....	9
TABLA DE ANEXOS.....	10
LISTA DE SIGLAS O ABREVIATURAS.....	11
RESUMEN.....	12
ABSTRACT.....	14
CAPÍTULO I.....	16
1. INTRODUCCIÓN.....	16
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	18
1.2 JUSTIFICACIÓN.....	20
1.3 OBJETIVOS.....	22
1.3.1 Objetivo general.....	22
1.3.2 Objetivos específicos.....	22
1.4 HIPÓTESIS DEL ESTUDIO.....	22
CAPÍTULO II.....	23
2. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL.....	23
2.1 ANTECEDENTES.....	23
2.2. MARCO TEÓRICO.....	25
2.2.1 Molécula de von Willebrand.....	25
2.2.1.1 Genética.....	25
2.2.1.2 Subunidad del Factor de von Willebrand.....	25

2.2.2 Hipermenorrea.....	27
2.2.2.1 Identificación de hipermenorrea en toalla.....	27
2.2.2.2 Identificación de hipermenorrea en tampón.....	27
2.2.3. Enfermedad de von Willebrand.....	28
2.2.3.1 Enfermedad de von Willebrand asociada a hipermenorrea.....	28
2.2.3.2 Signos y síntomas en mujeres con enfermedad de von Willebrand....	29
2.2.4 Pruebas de laboratorio para el diagnóstico de Enfermedad de von Willebrand.....	29
2.2.4.1 Prueba que mide la actividad de factor VIII.....	29
2.2.4.2 Cofactor de la Ristocetina.....	30
2.2.4.3 Pruebas cuantitativas de factor de von Willebrand.....	30
2.3 MARCO CONCEPTUAL.....	31
CAPÍTULO III.....	33
3.1 MARCO METODOLÓGICO.....	33
3.1.1. Diseño del estudio.....	33
3.1.2. Población	33
3.1.3. Muestra.....	33
3.1.4. Tamaño muestra.....	33
3.1.5. Selección de muestra.....	34
3.1.5.1.Criterios de inclusión.....	34
3.1.5.2.Criterios de exclusión.....	34
3.1.6. Operacionalización de variables.....	35
3.2. FASES METODOLÓGICAS.....	36
3.2.1. Solicitudes, autorizaciones y aprobaciones.....	36
3.2.2. Convocatoria y consentimiento informado.....	36
3.2.3. Aplicación de cuestionario y selección de pacientes.....	37
3.2.4. Toma de muestras.....	38
3.2.5. Transporte y pretratamiento de las muestras sanguíneas.....	39

3.2.6. Materiales, reactivos y equipo.....	40
3.2.7. Procedimiento.....	41
3.2.8. Resultados, interpretación y reporte.....	42
3.2.9. Control de calidad.....	43
3.2.10. Manejo de la información y análisis de datos.....	47
CAPÍTULO IV.....	48
4. RESULTADOS.....	48
4.1. Descripción de la muestra.....	48
4.2. Contaje de plaquetas.....	49
4.3. Evaluación del Tiempo de Tromboplastina Activada (TTP).....	50
4.4. Cuantificación del Factor anti- hemofílico A (FVIII).....	51
4.5. Cuantificación del Antígeno de Factor de von Willebrand (FvW:Ag).....	52
4.6. Relación entre disminución de TTP-disminución FVIII y disminución de TTP disminuciónFvW:Ag.....	53
4.7. Correlación de preguntas ponderadas del cuestionario y disminución	FvW:Ag 53
DISCUSIÓN.....	57
CONCLUSIONES.....	61
RECOMENDACIONES.....	62
BIBLIOGRAFÍA.....	63

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Operacionalización de variables.....	35
Tabla 2. Control de calidad control normal	43
Tabla 3. Control de calidad control patológico	43
Tabla 4. Control calidad FVIII.....	44
Tabla 5. Control calidad FvW:Ag.....	45
Tabla 6. Índice de concordancia conteo de plaquetas – Índice Kappa Cohen.....	46
Tabla 7. Intervalos de edades en pacientes con hipermenorrea.....	48
Tabla 8. Porcentaje de pacientes por intervalo de referencia conteo de plaquetas.....	49
Tabla 9. Análisis de TTP en porcentaje por número de pacientes.....	50
Tabla 10. Porcentaje por pacientes e intervalo de referencia de cuantificación de FVIII.....	51
Tabla 11. Relación del FVIII y FvW:Ag, cálculo de radio.....	51
Tabla 12. Porcentaje por pacientes e intervalo de referencia de cuantificación de FvW:Ag.....	52
Tabla 13. Tabulación de preguntas ponderadas con pacientes que mantienen el FvW:Ag disminuido.....	55

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Gen y transcripción de la proteína de von Willebrand.....	26
Gráfico 2. Pictograma de sangrado en compresas.....	27
Gráfico 3. Pictograma de sangrado en tampón.....	28
Gráfico 4. Complejo FvW-FVIII.....	30
Gráfico 5. Control de calidad prueba TTP.....	44
Gráfico 6. Control calidad FVIII.....	45
Gráfico 7. Control calidad FvW: Ag.....	46
Gráfico 8. Distribución por porcentajes de los intervalos de edad.....	48
Gráfico 9. Distribución por porcentaje por intervalo de referencia- contaje de plaquetas.....	49
Gráfico 10. Distribución por porcentaje de resultados en TTP.....	50
Gráfico 11. Distribución de pacientes con relación a la cuantificación de FVIII.....	52
Gráfico 12. Distribución de pacientes con relación a la cuantificación de FvW:Ag.....	53
Gráfico 13. Correlación de signos con disminución de FvW:Ag.....	55

TABLA DE ANEXOS

Anexo 1: Carta de intención participación en proyecto.....	66
Anexo 2: Carta de aprobación comité de ética de investigación en seres humanos – UTE.....	67
Anexo 3: Aprobación de protocolo por la DIS-MSP.....	70
Anexo 4: Formato de afiche para reclutamiento de pacientes.....	73
Anexo 5: Formato de consentimiento y asentimiento informado.....	74
Anexo 6: Cuestionario aplicado a las pacientes	78
Anexo 7: Ponderación de preguntas relevantes del cuestionario.....	81
Anexo 8: Condiciones pre analíticas previo a toma de muestra	82
Anexo 9: Manual toma de muestras basado en CLSI- traducido por la investigadora principal.....	83
Anexo 10: Lista de cotejo condición de muestra.....	84
Anexo 11: Reglamento de tratamiento de muestras (embalaje).....	85
Anexo 12: Protocolo de manejo de muestras de plasma y sangre total.....	86
Anexo 13: Protocolo de eliminación de muestras biológicas – resumen.....	87
Anexo 14: Protocolo de eliminación de desechos sólidos contaminados con fluidos biológicos – basado en MSP.....	88
Anexo 15: Formato para reporte de resultado.....	89
Anexo 16: Insertos de pruebas de laboratorio a realizar.....	90
Anexo 17: Resumen norma ISO 8655 – control de calidad gravimétrico.....	94

LISTA DE SIGLAS O ABREVIATURAS

E_vW: Enfermedad de von Willebrand

F_vW: Factor de von Willebrand

FVIII: Factor antihemofílico A

TTP: Tiempo de tromboplastina parcial activada

F_vW:Ag: Antígeno del Factor de von Willebrand

IX: Factor antihemofílico B

X: Factor Stuart Prower o autoprotrombina III

PUCE: Pontificia Universidad Católica del Ecuador

RESUMEN

La hipermenorrea es un trastorno en el sangrado menstrual, caracterizado por un volumen mayor a 80mL cada mes, este signo puede deberse a varias causas, sin embargo lo estudiado en la investigación fue en relación a la enfermedad de von Willebrand (EvW), una coagulopatía congénita que se caracteriza por la disminución del factor de von Willebrand lo cual evita una pronta formación del coágulo. La relación de la hipermenorrea con la enfermedad de von Willebrand es desconocida y a su vez poco tratada, sin embargo, a medida que pasa el tiempo las personas que presentan este signo deciden acudir al consultorio médico con el fin de conocer la razón del sangrado menstrual abundante. Aunque el diagnóstico de laboratorio es muy limitado en nuestro país, es de suma importancia aplicar algoritmos diagnósticos con pruebas de tamizaje (tiempo de tromboplastina parcial activada, conteo de plaquetas, visualización de frotis sanguíneos, factor VIII y factor de von Willebrand) que nos ayuden a la identificación temprana de la EvW, para evitar a tiempo, que la calidad de vida en adolescentes sufra un impacto en su calidad de vida. Por lo tanto, este estudio tuvo como objetivo principal el determinar la EvW por medio de la deficiencia del factor de von Willebrand, en pacientes que padecen de hipermenorrea, las mismas que son atendidas en los Centros Médicos Especializados de la Cruz Roja Ecuatoriana.

Metodología: El estudio fue descriptivo y transversal; el análisis de datos corresponde a una estadística descriptiva básica y se realizó la correlación de variables con el cuestionario aplicado a las pacientes por medio del diseño experimental y chi cuadrado. Se procesaron 113 muestras de sangre total y de plasma citratado de pacientes con un intervalo de edad de 10 a 19 años en el periodo de diciembre del 2020 a enero del 2021, el análisis se realizó por pruebas de coagulometría de luz dispersa (TTPa y FVIII) y turbidimetría mejorada en látex (FvW:Ag) en el equipo SYSMEX CA-600, mientras que el conteo de plaquetas se realizó por método manual en cámara de Neubauer.

Resultados: Las muestras procesadas fueron n=113, detectadas n=14 muestras (12%) con deficiencia de FvW:Ag y n=5 muestras (4,42%) con disminución de factor VIII. Al realizar el cálculo de radio en relación a FVIII:C/FvW:Ag de 5 adolescentes que presentaron el FVIII disminuido, se obtuvo un resultado positivo para ser posibles portadoras de hemofilia o una coagulopatía que debería ser estudiada, al ser los resultados menores a <0.7. Al relacionar a las n=14 muestras con deficiencia de FvW:Ag

con otros signos como: epistaxis, hematomas, sangrado en pequeñas heridas y cirugías evaluados en el cuestionario que cada paciente llenó, se determinó que n=3 (21,4%) presentaron signos severos adicionales a la hipermenorrea, n=8 (57,14%) presentaron signos moderado adicionales a la hipermenorrea y n=3 (21,4%) fueron adolescentes que no presentaron ningún otro signo aparte de la hipermenorrea que las caracterizaba. **Conclusión:** Los resultados del estudio demostraron que existió una clara relación de la hipermenorrea con resultados positivos al déficit de FvW:Ag. La relación de las pruebas de laboratorio determinó la deficiencia de FVIII y FvW:Ag de coagulación en unión a pruebas generales como tiempos alargados de TTP, siendo todos correlacionados con los signos reflejados en los cuestionarios que se aplicaron en base a diseño experimental.

Palabras claves: hipermenorrea, coagulopatía, enfermedad de von Willebrand, factor VIII, factor de von Willebrand.

ABSTRACT

Hypermenorrhea is a menstrual bleeding disorder, classified by a volume greater than 80mL each month, this sign may be due to several causes, however the one studied was in relation to von Willebrand's disease (VWD), a congenital coagulopathy that is characterized by the decrease in von Willebrand factor which prevents early clot formation. The relationship of hypermenorrhea with von Willebrand's disease is unknown and in turn little treated, however, as time goes by, people with this sign decide to go to the doctor's office in order to know the reason for heavy menstrual bleeding. Although laboratory diagnosis is very limited in our country, it is extremely important to apply diagnostic algorithms with screening tests (activated partial thromboplastin time, platelet count, visualization of blood smears, factor VIII and von Willebrand factor) that help us to the early identification of VWD, in order to avoid an impact on the quality of life in adolescents. Therefore, this study's main objective was to determine VWD by means of von Willebrand factor deficiency, in patients suffering from hypermenorrhea, the same who are treated in the Specialized Medical Centers of the Ecuadorian Red Cross. **Methodology:** The study was descriptive, cross-sectional; the data analysis corresponds to basic descriptive statistics and the correlation of variables was carried out with the questionnaire applied to the patients by means of experimental design and chi square. 113 whole blood samples and 113 citrated plasma samples were processed from patients in an age range of 10 to 19 years in the period from December 2020 to January 2021, the analysis was performed in scattered light coagulometry tests (APTT and FVIII) and improved latex turbidimetry (VWF: Ag) in the SYSMEX CA-600 equipment, while the platelet count was carried out by manual method in a Neubauer chamber. **Results:** The processed samples were $n = 113$, of which $n = 14$ samples (12%) with VWF: Ag deficiency and $n = 5$ samples (4.42%) with decreased factor VIII were detected. When calculating the ratio in relation to FVIII: C / VWF: Ag of 5 adolescents who presented decreased FVIII, a positive result was obtained to be possible carriers of hemophilia as these results were less than <0.7 . When relating the $n = 14$ samples with VWF: Ag deficiency with other signs such as: epistaxis, hematomas, bleeding in small

wounds and surgeries, it was determined that n = 3 (21.4%) had severe signs in addition to hypermenorrhea, n = 8 (57.14%) presented moderate signs in addition to hypermenorrhea and n = 3 (21.4%) were adolescents who did not present any other sign apart from the hypermenorrhea that characterized them. **Conclusion:** The results of the study showed that there was a clear relationship between hypermenorrhea and positive results for VWF: Ag deficiency. The relationship of the laboratory tests determined the deficiency of FVIII and VWF: Ag of clotting in conjunction with general tests such as times elongated TTP, all being correlated with the signs reflected in the questionnaires that were applied based on experimental design.

Key words: hypermenorrhea, coagulopathy, von Willebrand disease, factor VIII, von Willebrand factor.

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

La hipermenorrea es un trastorno que lo presentan las mujeres y adolescentes en edad fértil durante su periodo menstrual y es caracterizado por ser un sangrado abundante mayor a 80mL y puede durar 7 o más días, signo que alterará la calidad de vida en sentido social y físico. El sangrado menstrual abundante se ha vuelto una de las causas principales para que las adolescentes visiten al médico especialista (Hapangama & Bulmer, 2016). La frecuencia de hipermenorrea en adolescentes es de aproximadamente el 20%, por ello es sumamente importante investigar las causas que lo provoquen en especial cuando trata de una coagulopatía. La enfermedad de von Willebrand (EvW) es conocida como una de las coagulopatías congénitas más comunes y se caracteriza por afectar al 1% de la población mundial; la pueden padecer hombres y mujeres. Esta enfermedad se caracteriza por una deficiencia de una glicoproteína llamada factor de von Willebrand (FvW) ligada al endotelio y a las plaquetas para facilitar la adhesión y agregación plaquetaria durante la hemostasia primaria para que así exista la formación pronta de un coágulo frente a lesiones, y sirve como proteína transportadora del factor VIII de la coagulación (FMH, 2012; Govorov et al., 2016). Los signos recurrentes de epistaxis, gingivorragias, hematomas e hipermenorrea, son característicos de presentar la enfermedad, sin embargo se ha evaluado a lo largo del tiempo que la deficiencia del FvW puede no encontrarse manifestada en las personas y por ello requieren de un diagnóstico adecuado (Seravalli et al., 2013). En contexto científico y a nivel mundial, el 93% de personas que tienen EvW, van a presentar hipermenorrea, lo que conlleva a que se realice una serie de investigaciones para su diagnóstico y tratamiento temprano en adolescentes diagnosticadas y sus familias, con el fin de capacitar en base al manejo de la enfermedad, planificación familiar y procedimientos quirúrgicos futuros (Jacobson, Vesely, Koch, Campbell, & O'Brien, 2018). (Hapangama & Bulmer, 2016).

En el estudio se realizaron pruebas de rutina como el tiempo de tromboplastina parcial activada prueba la cual mide en segundos la capacidad que tienen los factores de coagulación en formar un coágulo frente a alguna lesión ; contaje de plaquetas que

permitió conocer cuál es la cantidad por milímetro cúbico de sangre total, adicionalmente, el realizar pruebas de cuantificación de factores como el FVIII ayudan al investigador a diferenciar de otra posible coagulopatía, siendo la cuantificación del FvW: Ag una prueba de laboratorio base de diagnóstico, la cual cuantifica al FvW circulante en plasma(C & Martinuzzo M, 2012).

Los estudios referentes a hipermenorrea asociada a EvW en nuestra población son muy limitados. Las estadísticas a nivel nacional, año 2016 solo indican 89 pacientes con EvW, que no fueron clasificados entre hombres y mujeres ; es por ello que el objetivo del presente estudio fue determinar la EvW en adolescentes con hipermenorrea que acuden a los Centros Médicos especializados de la Cruz Roja Ecuatoriana durante el primer trimestre del año 2020 (MSP,2017).

1.1.PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A nivel mundial, la enfermedad de von Willebrand es considerada como un trastorno hemorrágico hereditario; su prevalencia varía en cada país dependiendo del grupo poblacional y se estima que puede ir del 1% al 40% (FMH, 2020). La enfermedad se asocia con mutaciones en el cromosoma 12 y se transmite de manera autosómica, es decir heredada a hombres y mujeres. Las mujeres pueden presentar otras complicaciones como son un sangrado menstrual abundante, anemia, hemorragias durante el embarazo, parto y posparto, lo que puede poner en riesgo la vida de la paciente (Govorov et al., 2016).

Las causas de hipermenorrea pueden ser diferentes, entre ellas de origen ginecológico (miomas uterinos, quistes ováricos), hipotálamo– hipofisario- ovario (padecimientos hormonales), ciclos anovulatorios en primeros años de vida menstrual y coagulopatías. La relación existente entre la hipermenorrea y las coagulopatías corresponde, entre las más comunes, a las portadoras de hemofilia (deficiencia de proteína VIII o IX de coagulación) y a mujeres que presentan la enfermedad de von Willebrand (deficiencia de Factor de von Willebrand) (Gupta & Saxena, 2018).

Según el estudio de Seravalli (2013) la prevalencia de sangrados uterinos anormales fue de 13.3 al 15% en adolescentes que han sido atendidas en el servicio de pediatría del hospital de la Universidad de Careggi en Florencia, Italia, las mismas relacionadas con enfermedad de von Willebrand, se concluye que para la elección de un tratamiento adecuado se requiere de un diagnóstico oportuno que facilite la elección terapéutica, y mejore la calidad de vida de las mujeres afectadas, que además presentan anemia por deficiencia de hierro, depresión y ansiedad(Seravalli et al., 2013).

Parte del tratamiento para las pacientes que presentan la EvW es la administración de terapia hormonal que permite al factor de von Willebrand estabilizarse y mantenerse dentro del intervalo de referencia (70%-150%) (Teresa Álvarez Román H, 2016).

En el Ecuador no existen datos estadísticos acerca de la hipermenorrea y su asociación con la EvW, únicamente se encontró un registro del año 2016 con el reporte de 89 casos

de EvW en el país, sin especificar edad u otro dato que lleve a relacionar la hipermenorrea con la EvW(MSP, 2017). López y colaboradores en una revisión bibliográfica sobre trastornos hemorrágicos en mujeres que presentan hipermenorrea en poblaciones latinoamericanas, destaca que el 13% de mujeres en edad fértil presenta sangrado uterino anormal relacionado con enfermedad de von Willebrand (Francisco & Achard Arturo, 2017).

En los centros de atención médica, específicamente en las consultas ginecológicas el personal médico sigue un protocolo para el diagnóstico y seguimiento con la finalidad de conocer la causa de la hipermenorrea en las adolescentes. Entre los exámenes de laboratorio solicitan los tiempos de coagulación para descartar alguna alteración de este tipo y se realizan otras pruebas de laboratorio además de pruebas de imagen para llegar o confirmar un diagnóstico, pero es posible inadvertir la presencia de un trastorno de hemostasia primaria como sucede en la EvW, al no cuantificar la funcionalidad del factor de von Willebrand y la actividad del factor VIII; o además, las pacientes con hipermenorrea sin diagnóstico de causa ginecológica u hormonal, reciben tratamiento hormonal similar al indicado para causas ginecológicas, lo que puede enmascarar el trastorno hemorrágico.

Ante esta situación surge la necesidad de conocer si la hipermenorrea está asociada a un desorden hemorrágico, que requiere de pruebas de factor VIII y antígeno del factor de von Willebrand para llegar al grupo poblacional de adolescentes sin diagnóstico; por lo que se planteó la siguiente interrogante: ¿Cuál es la frecuencia de la enfermedad de von Willebrand en mujeres adolescentes que presentan hipermenorrea y que acuden a los Centros Médicos Especializados de la Cruz Roja en la ciudad de Quito?

1.2. JUSTIFICACIÓN

A nivel mundial la enfermedad de von Willebrand (EvW) se presenta alrededor del 1% de la población, dependiendo del grupo poblacional estudiado; en mujeres con hipermenorrea la frecuencia de EvW es del 8 al 13% (Woods, Blanco, Kempfer, Paiva, y Bermejo, 2016).

En la enfermedad de von Willebrand (EvW), los pacientes presentan signos característicos de sangrado como: hematomas, gingivorragias, hemorragia prolongada de la mucosa del tracto gastrointestinal y otros sangrados espontáneos dependiendo de la severidad de la enfermedad. En las mujeres se evidencia sangrado menstrual abundante (hipermenorrea), y en este grupo poblacional el diagnóstico y tratamiento oportuno son de suma importancia para mejorar la calidad de vida. (Lin y Chang, 2016).

El diagnóstico correcto de EvW en mujeres se basa en el historial de hemorragias y su relación con las pruebas básicas de laboratorio como: conteo de plaquetas, tiempo parcial de tromboplastina activada, y pruebas de laboratorio específicas para la enfermedad como la actividad del factor VIII y la cuantificación de la actividad del antígeno de von Willebrand (Simionescu et al., 2017).

En la investigación realizada por Hacioglu y colab. (2016), se determinó la frecuencia de anomalías hemorrágicas en mujeres con menorragia y su efecto sobre la calidad de vida; el estudio fue realizado en una muestra de 90 mujeres con menorragia previamente evaluadas; se encontró el 40% de trastornos hemorrágicos que fueron clasificados de la siguiente manera: 11.1% diagnosticados con EvW, el 2,2% solamente presentaron disminución en la cuantificación de actividad de factor de von Willebrand y el 26.7% presentaron desórdenes de la función plaquetaria, se confirmó que una de las causas más importantes de la hipermenorrea es la EvW.

En la atención médica, la búsqueda de la causa que provoca la hipermenorrea suele enfocarse principalmente en el desequilibrio hormonal, la presencia de fibromas uterinos o el uso de cierto tipo de medicamento, por lo que se solicita la cuantificación de niveles hormonales, química de rutina y exámenes de imagen, de tal manera que la sospecha de un trastorno hemorrágico queda para etapas posteriores y los signos de hemorragia se ven ocultos por el tratamiento hormonal. De acuerdo con lo descrito por Gupta y Saxena (2018), es importante pensar que la hipermenorrea puede deberse a un trastorno

hemorrágico, principalmente cuando sucede en el periodo fértil de la mujer, esto eleva la morbilidad materna y más cuando se trata de la EvW.

En este contexto juega un papel muy importante el laboratorio clínico, ya que la cuantificación del factor VIII y del antígeno de von Willebrand se vuelven herramientas indispensables para el diagnóstico de esta enfermedad (Simionescu et al., 2017). Entre las pruebas diagnósticas básicas se realizan: biometría hemática (para conocer el hematocrito y el conteo de plaquetas), antígeno de von Willebrand, y tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa). Las pruebas específicas, además de las indicadas anteriormente son: prueba de cofactor a la ristocetina y factor de vW unida al colágeno, pruebas de adhesión y agregación plaquetaria (PFA-100, PFA-200), pruebas de biología molecular para detectar la mutación específica y la detección de los multímeros por medio de electroforesis que ayudan a diferenciar entre los tres tipos y cuatro subtipos de la enfermedad. (Federación Mundial de Hemofilia, 2012).

La falta de investigaciones en nuestro medio que clarifiquen la presencia de la enfermedad de von Willebrand en mujeres con hipermenorrea y específicamente en mujeres adolescentes (10 a 19 años) es una de las razones para realizar este trabajo a través de pruebas de laboratorio que están al alcance en el país, de esta manera identificar a las mujeres adolescentes con trastornos hemorrágicos con riesgo de complicaciones en el futuro. Los resultados que se obtengan de este estudio ayudarán al personal médico de los Centros Médicos Especializados de la Cruz Roja Ecuatoriana para el diagnóstico oportuno, seguimiento y control de las pacientes así como prevenir complicaciones, lo que beneficiará al grupo de adolescentes, aportando a su diagnóstico y la oportunidad de mejorar su calidad de vida.

A nivel del personal del laboratorio, servirá para evidenciar la importancia de las pruebas de hemostasia y su implementación en los laboratorios clínicos, para apoyar a los médicos ginecólogos a corroborar la impresión diagnóstica.

Los resultados obtenidos en el estudio se sumarán a los datos del proyecto realizado a nivel nacional sobre el diagnóstico de Enfermedad de von Willebrand “Determinación de la Enfermedad de von Willebrand en personas con trastornos hemorrágicos en ocho provincias del Ecuador”, investigación que está siendo financiada por la PUCE, Facultad de Medicina, Carrera de Bioquímica Clínica.

1.3.OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo general

Determinar la prevalencia de la enfermedad congénita de von Willebrand (EvW) en adolescentes con hipermenorrea atendidas en los Centros Médicos Especializados de la Cruz Roja Ecuatoriana en la ciudad de Quito, 2020.

1.3.2. Objetivos específicos

-Identificar los cambios producidos en las pruebas de laboratorio de rutina (plaquetas y tiempo de tromboplastina parcial activado) y pruebas específicas que determinan la patología (Cuantificación de factor VIII y antígeno de von Willebrand) que se asocien a la EvW en adolescentes con hipermenorrea atendidas en los Centros Médicos Especializados de la Cruz Roja Ecuatoriana en la ciudad de Quito.

- Establecer la presencia de signos y síntomas de la enfermedad de von Willebrand en adolescentes con hipermenorrea atendidas en los Centros Médicos Especializados de la Cruz Roja Ecuatoriana en la ciudad de Quito, de acuerdo con la información obtenida en el cuestionario.

-Relacionar la severidad de los signos y síntomas asociados al cuestionario aplicado a las adolescentes con hipermenorrea atendidas en los Centros Médicos Especializados de la Cruz Roja Ecuatoriana en la ciudad de Quito.

1.4.HIPÓTESIS DEL ESTUDIO

H0: La hipermenorrea no es un indicador significativo en las adolescentes que presentan la EvW.

H1: La hipermenorrea es un indicador significativo en las adolescentes que presentan la EvW.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

2.1 ANTECEDENTES

La hipermenorrea es un trastorno ginecológico que se puede presentar por múltiples causas, este trastorno hace referencia a periodos menstruales regulares con sangrado excesivo de un volumen aproximadamente de 80 mL que se presenta aparentemente de 5 a 7 días en mujeres en edad fértil, existiendo una prevalencia de alrededor de 20% de adolescentes que padecen de este tipo de sangrado uterino disfuncional, el cual se puede manifestar por distintas causas (Serret, Hernández, Cárdenas y Villasiset al., 2012).

La identificación de mujeres adolescentes con hipermenorrea asociada a coagulopatía se realiza a partir de algoritmos que han sido establecidos por la Federación Mundial de Hemofilia y deben ser usados por cada laboratorio especializado en hematología para determinar si las pacientes presentan trastornos hemorrágicos(FMH, 2012) .

En el estudio realizado por Díaz y colab. (2014) en 131 adolescentes del Hospital del Niños en Texas, el 32% presentaron disminución del FvW y recomendaron realizar una evaluación sistemática en este grupo de pacientes. Khamees en el mismo año realizó una investigación en 673 adolescentes (de 10 a 17 años) que presentaron hipermenorrea, y reportó un 10% con EvW y el 90% restante con trastornos ginecológicos que debían ser encaminados a una evaluación y que reciban el tratamiento adecuado (Khamees, O'Brien y Klima, 2014).

En el año 2015 otros investigadores estudian de manera retrospectiva los desórdenes hemorrágicos en 50 adolescentes y encuentran que el 10% (n=5) presentan EvW, 2 casos con púrpura trombocitopénica inmune y un caso que padecía Síndrome de Bernard Soulier: concluyen que la frecuencia de sangrados anormales es muy común hoy en día en las adolescentes (Karaman *et al.*, 2015).

Torres y colaboradores (2016), evaluaron la incidencia de desórdenes hemorrágicos en una población adolescente chilena de 46 adolescentes con varios tipos de sangrados anormales, el 37.5% (17 pacientes) de los casos presentaron EvW, y concluyeron que son muy pocas las adolescentes que buscan ayuda médica previo a presentar problemas asociados a la hipermenorrea(Torres et al., 2017).

En el año 2016 uno de los estudios realizado por Hacioglu, reportó que de 90 adolescentes, el 11.1% de ellas presentaron EvW, los factores de riesgo como antecedentes familiares, mutaciones y polimorfismos en el cromosoma 12 correspondieron al 2,2% y las que presentaron desórdenes en la funcionalidad de plaquetas fue del 26,7%. Se concluyó que los sangrados anormales de carácter hereditario podrían tener una relación muy alta con la calidad de vida de las personas que lo presentan, y estos pueden ser controlados siempre y cuando los estudios diagnósticos realizados en los laboratorios sean los pertinentes para la detección de la enfermedad , lo que permite que los especialistas proporcionen un tratamiento adecuado(Hacioglu, Karabulut, Sari, & Keskin, 2016). En el estudio retrospectivo realizado en el año 2018 por Jacobson y colaboradores con 23 888 historias clínicas de mujeres , determinaron que el 24% (n=5 733) padecían de EvW, siendo esta coagulopatía una de las más comunes presentadas en mujeres con hipermenorrea (Jacobson et al., 2018).

En el Congreso del Consorcio Europeo de Hemofilia en el año 2019, realizado en Alemania, se expuso en base a encuestas realizadas a mujeres de países europeos, las distintas problemáticas que presenta la mujer al ser diagnosticada con una coagulopatía entre ellas la EvW; los resultados determinaron que del 40 al 70% de ellas, presentaron un riesgo potencial de hemorragias al final del embarazo y parto y por tanto una afectación en su calidad de vida (EHC, 2019).

Actualmente a nivel nacional, no existen datos estadísticos de estudios observacionales con pacientes que presenten hipermenorrea asociadas a EvW, sin embargo López y colaboradores en el año 2017 en una revisión bibliográfica sobre trastornos hemorrágicos en mujeres que presentan hipermenorrea en poblaciones latinoamericanas, destaca que el 13% de mujeres en edad fértil presenta sangrado uterino anormal relacionado con enfermedad de von Willebrand(Francisco & Achard Arturo, 2017).

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1 Molécula de von Willebrand.

2.2.1.1 Genética.

El gen del factor de von Willebrand se encuentra en el brazo corto (p) del cromosoma 12, sin embargo, con el tiempo y las nuevas técnicas de secuenciación se ha encontrado un pseudogen localizado en el cromosoma 22, este pseudogen es de carácter inactivo debido a la gran cantidad de codones stop que presenta en su secuencia codificadora, por ello, el análisis del polimorfismo de la longitud del fragmento de restricción es complicado de realizar (Batlle, 2014).

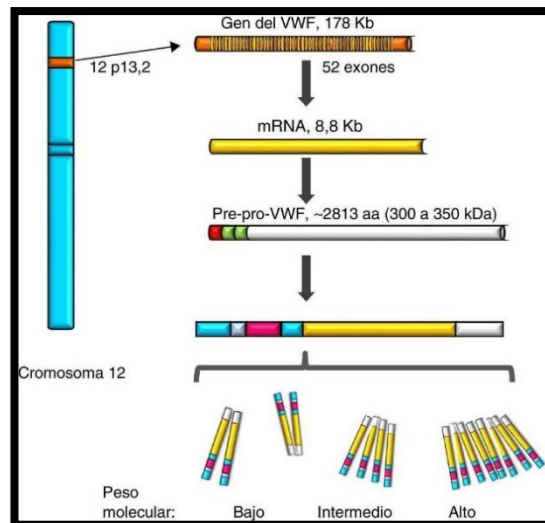
El gen se expresa en las células endoteliales y megacariocitos formando puentes disulfuro en las terminaciones carboxiterminales con el fin de formar dímeros para así atravesar el retículo endoplásmico y aparato de Golgi, estos dímeros formados se almacenan en forma de cuerpos llamados Weibel Palade dentro del endotelio y en los gránulos alfa de los megacariocitos productores de plaquetas (Mexicana de Cirugía & México Hernández-Zamora, 2015).

2.2.1.2 Subunidad del Factor de von Willebrand.

El FvW presenta una estructura tetrapeptídica de arginina, glicina, asparagina y serina, este complejo facilita la adhesión plaquetaria al endotelio debido a que presentan gran cantidad de lugares glicosilados en la molécula, proporcionando así los hidratos de carbono en un 18.7% del peso, que le protegen de la acción de las enzimas proteolíticas. La estructura final de la molécula es proporcionada por una alta cantidad de cisteína que interactúa en los puentes disulfuro presentes en la misma, y que permite la interacción con el colágeno del endotelio, heparina y los receptores plaquetarios de las glicoproteínas (GpIb y Gp IIb/IIIa) (Batlle, 2014).

Gráfico 1

Gen y transcripción de la proteína de von Willebrand.



Nota: esta figura nos indica el comportamiento molecular de la EvW. Fuente: Hernández, et.al, 2016)

2.2.2 Hipermenorrea.

La hipermenorrea es un trastorno ginecológico que se puede presentar por múltiples causas, este trastorno hace referencia a periodos menstruales regulares con sangrado excesivo de un volumen aproximadamente de 80 mL que se presenta aparentemente de 5 a 7 días en mujeres en edad fértil (Serret, Hernández, Cárdenas y Villasiset al., 2012).

La identificación de hipermenorrea es un método no invasivo que guiará al médico a conocer sus posibles causas por medio de la historia clínica de la paciente que incluye: inicio de la menarca, duración de cada ciclo, posibles alteraciones en el mismo y antecedentes que relacionen la presencia de la hipermenorrea (Achard y López, 2017).

Esta evaluación se realiza en conjunto con la paciente y el médico, utilizando un patrón menstrual que permite a la paciente señalar el día de comienzo y fin de su periodo, y también señala el grado de saturación del producto sanitario que utilizó. Después se da un puntaje y se realiza un cálculo que indicará si la paciente presenta o no hipermenorrea. Este conteo se interpreta de tal manera que, si la paciente completa 100 puntos o sobrepasa los 100 puntos, el médico tratante indicará la presencia de hipermenorrea (Achard y López, 2017).

2.2.2.1 Identificación de hipermenorrea en toalla.

El patrón menstrual hace referencia al uso de productos sanitarios como identificación principal de hipermenorrea, el uso de toallas sanitarias corresponde a uno de los productos más utilizados en el mercado. Se toma en cuenta tamaño y capacidad del producto. Se asignan puntos a las distintas formas de flujo menstrual, correspondiendo a: flujo ligero que se presente en el producto (1 punto), flujo moderado que se presente en el producto (5 puntos), flujo abundante que empapa el producto (20 puntos), presenta coágulos pequeños (1 punto) y si presenta coágulos grandes (5 puntos), tomando en cuenta que el total de puntos debe ser 100 o sobrepasar de los 100 para determinar una hipermenorrea (Achard y López, 2017).

Gráfico 2.

Pictograma de sangrado en compresas

COMPRESAS	12	34	56	78			
							
							
							
PRESENCIA COÁGULOS							

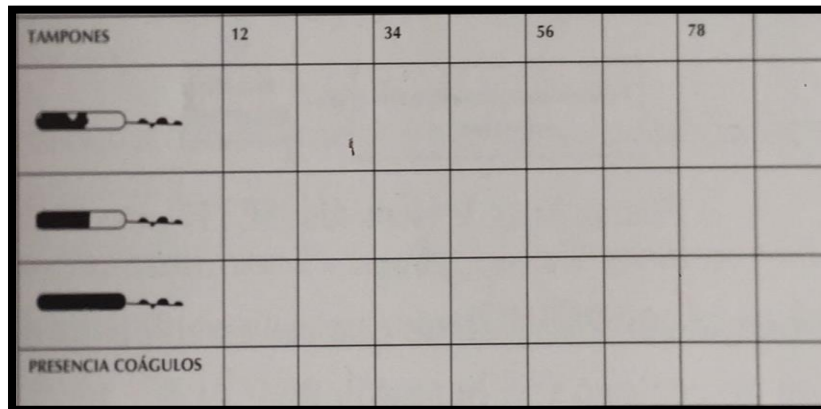
Nota: esta figura nos indica la calificación y puntaje a aplicar en pacientes con hipermenorrea y que usan toallas higiénicas. Fuente: (López, 2017)

2.2.2.2 Identificación de hipermenorrea en tampón.

El tampón al ser otro producto de uso común en las mujeres, ha obligado a que se establezcan parámetros para determinar hipermenorrea de acuerdo con la presencia del flujo sanguíneo presente en el tampón, así: 1 punto para flujo ligero, 5 puntos para flujo moderado, 10 puntos para flujo abundante definido como tal cuando el tampón se encuentra empapado con el flujo menstrual, además si presenta coágulos pequeños 1 punto y si son grandes, corresponde a 5 puntos. Para determinar una hipermenorrea el total debe ser 100 o más puntos (Achard y López, 2017).

Gráfico 3

Pictograma de sangrado en tampón



Nota: esta figura nos indica la calificación y puntaje a aplicar en pacientes con hipomenorrea y que usan tampón. Fuente: (López, 2017)

2.2.3. Enfermedad de von Willebrand.

La EvW es un trastorno de coagulación debido a la deficiencia de la proteína que favorece a la agregación de las plaquetas llamada factor de von Willebrand (FvW), esto provocará que al lesionarse un vaso sanguíneo no se forme el tapón primario adecuadamente y por lo tanto demore en coagular y la hemorragia demore más en detenerse (Martinuzzo y Duboscq, 2012).

La enfermedad de von Willebrand es de tipo hereditario, es decir los genes de la enfermedad se transmiten de padre o madre a hijo o hija. La EvW tipo 1 y 2 se heredan de manera dominante y EvW de tipo 3 se hereda de manera recesiva (World Federation of Haemophilia, 2020; Martinuzzo y Duboscq, 2012).

2.2.3.1 Enfermedad de von Willebrand asociada a hipermenorrea.

La EvW asociada a hipermenorrea se evidencia en mujeres en edad fértil al momento que tienen su menarca. Se conoce a la menstruación como el proceso fisiológico normal en la mujer cuando el óvulo no es fecundado, lo que provoca que el endometrio desprenda la capa principal que recubre la cavidad del útero provocando el sangrado normal a través de la cavidad vaginal (Díaz, *et al.*, 2014).

Los procesos hemorrágicos siempre serán mediados por los factores de coagulación y las plaquetas los cuales evitarán que se produzca sangrados extendidos y excesivos, en este caso

la asociación con la EvW corresponde a la falta y alteraciones cualitativas de FvW que no permite que las plaquetas se adhieran a la pared de los vasos sanguíneos del endometrio y que las plaquetas se agreguen provocando la unión entre ellas para evitar el sangrado por un tiempo prolongado (Díaz, *et al.*, 2014).

2.2.3.2 Signos y síntomas en mujeres con enfermedad de von Willebrand.

Los signos y síntomas de la EvW dependen del tipo o subtipos que presente la persona sea este EvW 1, 2 (2A, 2B, 2N, 2M) y 3. Cada uno de estos tipos se diferencian únicamente por los resultados de las pruebas diagnósticas que se obtengan, sin embargo, mediante biología molecular se puede analizar la clase de mutación que existe. Las adolescentes con la enfermedad pueden presentar hematomas que aparecen espontáneamente en el cuerpo o por golpes provocados, sangrado extendido y excesivo en cortes o lesiones dependiendo la gravedad y profundidad de las mismas, gingivorragias, epistaxis que resultan ser frecuentes y complicadas de detener, hipermenorrea y según la severidad de la enfermedad también pueden presentarse sangrados a nivel gastrointestinal o renal siendo estos riesgosos para la salud del paciente con EvW (Díaz, *et al.*, 2014).

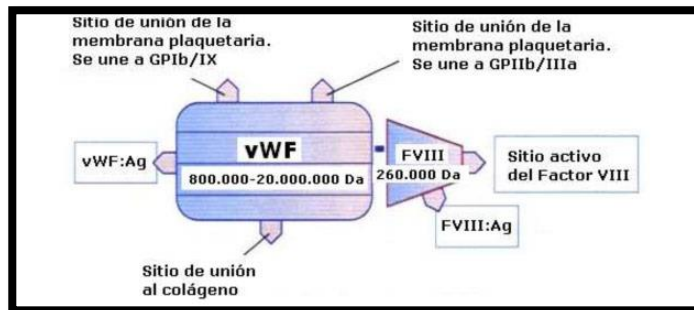
2.2.4 Pruebas de laboratorio para el diagnóstico de Enfermedad de von Willebrand.

2.2.4.1 Prueba que mide la actividad de factor VIII.

El factor VIII, llamado también globulina antihemofílica A, factor antihemofílico A y su actividad coagulante es una de las pruebas realizadas para el diagnóstico de EvW; si la proteína se encuentra disminuida ayudará al diagnóstico de hemofilia A. Dependiendo del porcentaje de actividad que se obtenga, se clasifica en hemofilia leve, moderada y severa. En la EvW se puede detectar una disminución leve o cantidad normal del factor VIII en todos los tipos a excepción del subtipo 2N y tipo 3 el cual reflejará valores muy disminuidos de este factor (Joseleg, 2012). El FvW actuará como proteína de protección hacia el Factor VIII, impidiendo la degradación y permitiendo la estabilidad para que actúe como activador del factor X conocido como factor Stuart Prower y que actúa en la formación de fibrina dentro de la vía común de la coagulación, como se observa en la Figura 4 (Ministerio de Salud Pública, 2016).

Gráfico 4

Complejo FvW-FVIII



Nota: Esta figura nos indica la actividad en conjunto y estructura del complejo del factor VIII de coagulación con el factor de von Willebrand. Fuente: (Rodak, 2017)

2.2.4.2 Cofactor de la Ristocetina

La prueba de cofactor de la ristocetina mide la actividad del factor de von Willebrand en la agregación y adhesión plaquetaria en presencia de ristocetina; esta prueba se basa en la agregometría con un método inmunturbidimétrico el cual se dirige al punto de unión de las plaquetas en la glicoproteína Ib, siendo el sitio de recepción del FvW esta se une a partículas de látex el momento en que tiene contacto con el anticuerpo monoclonal específico, sus valores normales corresponden a 50-150%, considerado un valor patológico menor al 50% (Martinuzzo y Duboscq, 2012).

2.2.4.3 Pruebas cuantitativas de factor de von Willebrand.

La detección del antígeno de von Willebrand (vW: Ag) cuantifica la concentración de esta proteína presente en el organismo, en base a la reacción inmunológica antígeno – anticuerpo (Jiménez, Ortiz y Béjar, 2012). El método más utilizado para la cuantificación de FvW:Ag es el método de ELISA de tipo sánduche en el cual los anticuerpos específicos para FvW humano se encuentran estabilizados en las placas de microELISA, en esta prueba se detectará la concentración de antígeno que se encuentra en la muestra de plasma citratado del paciente (Stufano, Baronciani, y Peyvandi, 2017).

2.3 MARCO CONCEPTUAL

Adhesión plaquetaria: Acción de las plaquetas de unirse al colágeno del vaso sanguíneo lesionado por medio de glicoproteínas Ib/IX y detener el sangrado (Bermejo, 2017).

Agregación plaquetaria: Acción de las plaquetas de unirse entre ellas por medio de glicoproteínas Iib/IIIa a través de la formación de pseudópodos en las mismas (Bermejo, 2017).

Adolescente: periodo de crecimiento y desarrollo humano que se produce después de la niñez y antes de ser adulto, entre los 10 a 19 años (OMS, 2019).

Coagulación: Proceso en el que participan proteínas de coagulación llamadas factores y en conjunto con las plaquetas permiten la formación de un coágulo frente a lesiones o rupturas de vasos sanguíneos (Martinuzzo M, 2017).

Coagulopatía: Enfermedad caracterizada por presentar deficiencia o alteraciones cualitativas de factores de coagulación (Merchán, Álvez y Sanches, 2017).

Disfunción plaquetaria: Disminución de la actividad plaquetaria debido a deficiencia de glicoproteínas de membrana que impiden la adhesión y agregación de las mismas, provocando sangrados anormales y espontáneos (Dalmau, 2013).

Endometrio: Tejido de aspecto mucoso que tiene por función recubrir la cavidad uterina, el cual puede variar conforme el ciclo menstrual (Achard y López, 2017).

Factor de von Willebrand: Proteína que se forma en el endotelio y megacariocitos que permite la adhesión de las plaquetas al vaso sanguíneo lesionado y la agregación entre plaquetas (Genetic and Rare Diseases, 2014).

Factor VIII: Denominado globulina antihemofílica, factor antihemofílico A. Es una proteína de coagulación que se responsabiliza de la división del factor X que se activa por el factor IX (Román, 2016).

Hemostasia: Equilibrio entre hemorragia y coagulación frente a lesiones del vaso sanguíneo, donde actúan plaquetas y proteínas de coagulación (Martinuzzo M, 2017).

Hemostasia primaria: Proceso el cual ocurre apenas se presenta la lesión y actúan las plaquetas sobre la pared vascular con el fin de detener el sangrado inmediato (Martinuzzo M, 2017).

Hemostasia secundaria: Es un proceso conjunto con la hemostasia primaria, donde actúan los factores o proteínas de coagulación en cascada con el fin de formar los polímeros de fibrina (Martinuzzo M, 2017).

Hipermenorrea: Término relacionado con el sangrado anormal durante el periodo menstrual con un flujo mayor a 80mL durante 7 días o más (Hapangama & Bulmer, 2016).

Menstruación: Proceso fisiológico en mujeres en edad fértil, en el cual se desprende la capa mucosa de la cavidad uterina al no existir fecundación, proceso que se presenta en un promedio de cada 25 a 30 días (Hapangama & Bulmer, 2016).

Plaqueta: Fragmento celular perteneciente al citoplasma del megacariocito, encargadas de actuar en los procesos de hemostasia para generar un proceso de coagulación frente a lesiones vasculares (Bermejo, 2017).

CAPÍTULO III

3.1.MARCO METODOLÓGICO

3.1.1. Diseño del estudio.

El estudio es de tipo observacional, descriptivo y transversal; descriptivo, porque se centra en el estudio de los resultados de pruebas de laboratorio y presencia de signos y síntomas que presentan las adolescentes sin intervenir o modificar su condición y transversal porque las pruebas de laboratorio y la aplicación de la encuesta se realizará en un único momento durante el tiempo de la investigación.

3.1.2. Población

La población está conformada por las adolescentes con hipermenorrea atendidas en los Centros Médicos Especializados de la Cruz Roja Ecuatoriana-Cruz vital en el primer cuatrimestre del año 2020 en la ciudad de Quito.

3.1.3. Muestra

Frente a una probabilidad de éxito del 8% encontrada por Karaman en el año 2015 en adolescentes que presenten desórdenes hemostáticos, con un nivel de confianza del 95% ($z=1.96$) y un error del 5%, se calcula un tamaño muestral de 113 adolescentes con hipermenorrea, las mismas que son atendidas en los Centros Médicos Especializados de la Cruz Roja Ecuatoriana.

3.1.4. Tamaño muestra

Fórmula de población infinita

$$n = \frac{Z_{1-\alpha}^2 \times p \times q}{d^2}$$
$$n = \frac{1.96^2 \times 0.08 \times 0.92}{0.05^2}$$
$$n = 113$$

Donde

n = tamaño de muestra

Z α^2 : (1.96)² para un nivel del confianza del 95%

p: proporción esperada, el 8%

q: 1-p, en este caso (1-0,08= 0,92)

d: precisión, del 5%

3.1.5. Selección de muestra

3.1.5.1. Criterios de inclusión

- Adolescentes entre 10-19 años de edad que presentan hipermenorrea determinada por un puntaje de más de 80 en el pictograma.
- Adolescentes atendidas en el Centro Médico Especializado de la Cruz Roja en el primer trimestre del año 2020.
- Adolescentes con hipermenorrea sin causa confirmada.
- Adolescentes adolescentes mayores de edad con hipermenorrea que libre y voluntariamente deseen participar en el estudio y firmen el consentimiento/asentimiento informado.
- Adolescentes adolescentes menores de edad con hipermenorrea que libre y voluntariamente deseen participar en el estudio y firmen asentimiento informado además de sus representantes legales firmen el consentimiento informado.

3.1.5.2. Criterios de exclusión

- Adolescentes embarazadas con antecedentes de hipermenorrea.
- Adolescentes con tratamiento hormonal (anticonceptivos con estrógenos).
- Adolescentes que hayan realizado actividad física 24 horas previas a la toma de muestra sanguínea.
- Adolescentes que se encuentren con administración de antiagregantes, anticoagulantes, antifibrinolíticos y anticonceptivos.
- Pacientes mayores de edad que no firmen el documento de consentimiento informado.
- Pacientes menores de edad cuyos representantes no firmen el documento de consentimiento/asentimiento informado.

Tabla 1

Operacionalización de variables

3.1.6. Operacionalización de variables

Objetivos	Variable	Definición Conceptual	Dimensión	Indicador	Tipo de variable	Escala de medición	Técnica	Instrumento
Analizar los resultados de las pruebas de laboratorio básicas para trastornos de la coagulación en las adolescentes con hipermenorrea.	Contaje de plaquetas	Cantidad de plaquetas en mililitro de sangre del paciente	Trombopenia: plaquetas < 150000/mm ³ En intervalos de referencia: 150000/mm ³ – 450 000 mm ³ Trombocitosis: plaquetas > 450.000 mm ³	Frecuencia absoluta Frecuencia relativa(%)	Cualitativa	Ordinal	De laboratorio (técnica manual)	Registro en la hoja trabajo
	TTPa	Prueba de laboratorio que evalúa la vía intrínseca de la coagulación.	Disminuido: TTP <25 seg. Rango de referencia: TTP 25 – 35 seg. Prolongado TTP >35 seg	Frecuencia absoluta Frecuencia relativa (%)	Cualitativa	Ordinal	De laboratorio (coagulometría)	Registro de resultados del equipo
	FvW:Ag	Prueba de laboratorio que detecta la concentración de FvW libre circulación.	Disminuido: FvW: Ag <50%. Rango de referencia: FvW:Ag 50% - 150%	Frecuencia absoluta Frecuencia relativa (%)	Cualitativa	Nominal	De laboratorio (turbidimetría con látex)	Registro de resultados del equipo
	FVIII	Prueba de laboratorio que detecta el porcentaje de la actividad de la proteína (FVIII) que se encuentra en libre en circulación.	Disminuido: FVIII <50% Rango de referencia: FVIII 50% - 150%	Frecuencia absoluta Frecuencia relativa (%)	Cualitativa	Nominal	De laboratorio (coagulometría)	Registro de resultados del equipo
Establecer la presencia de signos y síntomas de la enfermedad de von Willebrand en el grupo de mujeres adolescentes con hipermenorrea de acuerdo con la información obtenida en las encuestas, relacionado con diagnóstico de laboratorio.	Enfermedad de von Willebrand	Enfermedad causada por la deficiencia de factor de von Willebrand que evita la adhesión y agregación plaquetaria.	-Presencia -Ausencia	Frecuencia absoluta Frecuencia relativa (%)	Cualitativa	Ordinal	Observación	Datos de Encuesta. Registro de resultados de laboratorio
Relacionar la severidad de los signos y síntomas asociados al cuestionario con la EvW.	Hipermenorrea	Mujeres que durante su periodo menstrual presenten un volumen mayor a 80mL en su flujo.	Toalla – Tampón 1 punto – flujo ligero 5 puntos- flujo moderado 20 puntos – flujo abundante (toalla empapada) / 10 puntos (tampón empapado).	Cuantitativa	Discreta	Pictograma – puntaje.	Observación	Datos de Encuesta Registro de resultados

Nota: La tabla presenta todas las variables a estudiar y a correlacionar. Fuente: (Bohórquez, 2020)

3.2. FASES METODOLÓGICAS

3.2.1. Solicitudes, autorizaciones y aprobaciones

Reunión: Se realizó una reunión con el médico especialista en hematología, de los Centros Médicos Especializados de la Cruz Roja Ecuatoriana-Cruz Vital que atiende a las adolescentes con problemas de hipermenorrea, con el fin de plantear la necesidad de realizar un estudio sobre los trastornos hemorrágicos en adolescentes con hipermenorrea y la importancia que tiene el mismo, además de solicitar su colaboración. El médico de dicho Centro demostró interés y aceptó participar y facilitar el contacto con las adolescentes que presenten hipermenorrea y cumplan con los criterios de inclusión y decidan participar libre y voluntariamente en el estudio (Anexo 1).

Aprobación en la Unidad Académica: Presentación del plan de trabajo de titulación a la Unidad de Titulación de la Carrera de Bioquímica Clínica de la PUCE el cual fue aprobado con éxito.

Autorización Facultad de Medicina y Coordinación de Bioquímica Clínica: Se obtuvo el permiso para el uso del laboratorio de Hematología, del equipo coagulómetro Sysmex CA600 y de la ultracongeladora para almacenamiento de muestras.

Aprobación y autorización: Aprobación del protocolo de investigación por parte del Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos – Universidad Tecnológica Equinoccial (CEISH-UTE) y de autorización por parte de la Dirección Nacional de Inteligencia en Salud del Ministerio de Salud Pública (DIS-MSP)(Anexo 2) (Anexo 3).

3.2.2. Convocatoria y consentimiento/asentimiento informado

El personal médico del Centro Médico Especializado de la Cruz Roja Ecuatoriana atiende a pacientes que padecen de hipermenorrea, por tal razón se hizo un llamado colectivo a las pacientes y a sus representantes mediante afiches que fueron colocados en las instalaciones del centro médico. Las personas interesadas fueron llamadas a una reunión para dar a conocer el estudio expuesto por la investigadora principal (Anexo 4).

En la reunión la investigadora principal explicó a las pacientes y a sus representantes legales los detalles del proyecto y la importancia de su participación, la necesidad de obtener una

muestra de sangre por punción venosa en dos tubos para recolección y las molestias que podría ocasionar, responder a una encuesta que proporcionará información sobre signos y medicación, y asegurar la confidencialidad de la información como uno de sus principales derechos frente al uso exclusivo de las muestras biológicas para este estudio(CIOMS, 2016).

A las personas interesadas, la investigadora principal fue la encargada de proporcionar el documento de consentimiento/asentimiento informado para su lectura , el mismo que fue llenado en ese mismo momento y si era necesario las pacientes se los llevaban a su domicilio, este documento contiene datos personales de las pacientes, por ello, estos al ser de carácter físico fueron almacenados en una carpeta bajo custodia de la directora del proyecto, cabe recalcar que este fue el único documento que propiciaron los datos completos de las participantes, mientras que el resto de los documentos y base de datos se manejaron con el código asignado a cada una de las pacientes. En caso de que las pacientes no se encuentren en la facultad de leerlo, escogieron a un testigo de entera confianza los mismos que no podían encontrarse involucrados directa o indirectamente con el estudio. Adicionalmente se solventaron dudas o preguntas en caso de presentarse. Las pacientes que estuvieron de acuerdo y desearon participar en el estudio se les solicitó que libre y voluntariamente firmen el consentimiento informado en caso de ser mayor de edad o el asentimiento informado en caso de ser menor de edad, además de la firma de los representantes legales; en el caso de no saber leer ni escribir y de desear participar en el estudio, un testigo firmó el documento de la aceptación a participar en la investigación de manera libre y voluntaria y que se le ha leído el consentimiento y se han contestado todas las preguntas y dudas (Anexo 5).

3.2.3. Aplicación de cuestionario y selección de pacientes

La aplicación del documento de consentimiento informado es un deber para la investigadora principal y un derecho para las personas que deseen participar en este estudio (CIOMS, 2016). Las pacientes previamente identificadas por su médico tratante con hipermenorrea sin causa confirmada se les solicitó que firmen libre y voluntariamente (y sus representantes legales o testigo de ser el caso), el consentimiento/asentimiento informado, además de llenar un cuestionario el mismo que fue diseñado metodológicamente en el que se realizó un diseño de experimento adecuado para obtención de datos sobre los signos que presentan las pacientes y para establecer si cumplen los criterios de inclusión requeridos para el estudio, en esta ocasión se realizó una ponderación a las preguntas de relevancia para correlacionar

la hipermenorrea en conjunto con otros signos que nos permita reconocer la severidad de la EvW en estas pacientes (Anexo 6) (Anexo 7).

Con la finalidad de asegurar la confidencialidad de la información se asignó un código alfanumérico a cada participante en reemplazo de los identificadores (nombres y apellidos completos) y se elaboró una lista en formato electrónico (computadora de la directora y flash memory) y físico, que relaciona el código con el identificador. El formato electrónico tiene clave de acceso y tanto este como el físico se encuentra bajo custodia de la directora de la investigación y pudieron ser utilizadas por la investigadora (estudiante) previa autorización de la directora del estudio.

A las pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, se les entregó un instructivo en el que se incluye el día y hora de toma de muestra sanguínea y, las condiciones preanalíticas que debe cumplir (Anexo 8).

3.2.4. Toma de muestras

Toma de muestra: Las pacientes que cumplieron los criterios de inclusión acudieron a los Centros Médicos Especializados de la Cruz Roja Ecuatoriana-Cruz Vital, Av. La Prensa y Papallacta (Matriz) para la toma de muestra sanguínea, procedimiento que fue realizado por la investigadora principal en hora y fecha establecida. Este procedimiento tuvo como fin obtener muestras sanguíneas para la cuantificación de plaquetas, factores y tiempos de coagulación para cumplir con los objetivos propuestos.

Para la toma de muestra se siguió el protocolo para extracción venosa basado en la Norma CLSI GP 41 A 6, “Procedures For The Collection Of Diagnostic Blood Specimens By Venipuncture” (Anexo 9).

El procedimiento que se realizó en la paciente no requería ayunas y la paciente no debía haber realizado ejercicio el día anterior y fue el siguiente para ambas muestras:

- Identificación de la paciente.
- Utilizar equipo de bioseguridad (traje de bioseguridad, bata desechable, visor, guantes).
- Desinfección con amonio cuaternario en superficies que el paciente tuvo posible contacto.
- Desinfección del torniquete y colocación del mismo al paciente.
- Selección del sitio de venopunción y desinfección de dicha área con alcohol al 70%.

- Puncionar la vena y recolectar dos muestras sanguíneas detalladas de la siguiente manera: muestra sanguínea recolectada en tubo al vacío, de vidrio, con anticoagulante citrato de sodio a una concentración de 3.2% en relación 1:9 (tapa celeste), para un volumen aproximado de 5 mL que servirán para las pruebas de coagulación y una muestra sanguínea recolectada en tubo de polipropileno al vacío, con anticoagulante EDTA K2 (Etilendiaminotetracético dipotásico) (tapa lila), para un volumen aproximado de 3 mL utilizado para el conteo plaquetario (en ambos casos los tubos serán agitados de 5 a 8 veces para evitar hemólisis de la muestra) – retirar el torniquete.

- Retirar aguja de venopunción y realizar una leve presión con algodón seco y estéril para detener el flujo de sangre.

-Desechar la aguja de venopunción en el recipiente de cortopunzantes.

-Aconsejar al paciente que repose 5 minutos después de terminado el procedimiento.

El procedimiento a seguir para la toma de muestra respetó las normas de bioseguridad y calidad, además, se llenó una lista de chequeo acerca de condiciones de la muestra (Anexo 10).

Para prevenir el sangrado en el lugar de venopunción se solicitó a la paciente no realizar fuerza con el brazo en el que se realizó la extracción sanguínea y tanto para prevenir el sangrado o la presencia de un pequeño hematoma, se le sugirió que mantenga un algodón con ligera presión sobre el sitio de punción durante 5 minutos sin doblar el brazo.

Los tubos de recolección de sangre fueron identificados de acuerdo con el código alfanumérico asignado a cada paciente, con la finalidad de asegurar la confidencialidad y anonimizar la muestra.

Todo el material utilizado en la toma de muestra se descartó respetando las normas de bioseguridad y los procedimientos establecidos para el efecto en el “Reglamento para la gestión integral de los residuos y desechos generados en los establecimientos de salud”, Acuerdo Ministerial 0323-2019, del MSP.

3.2.5. Transporte y pretratamiento de las muestras sanguíneas

Las muestras y datos obtenidos fueron custodiados por la investigadora principal hacia el laboratorio de Hematología de la Carrera de Bioquímica Clínica de la PUCE,

inmediatamente después de la toma de muestras sanguíneas al grupo convocado, para lo cual se utilizaron cajas térmicas y se mantuvieron de 4-8°C con ayuda de geles refrigerantes y se las transportó en automóvil propio. El embalaje se realizó de acuerdo con lo establecido en los “Lineamientos técnicos para el manejo muestras biológicas y químicas” Acuerdo Ministerial 084-2017. (Anexo 11). El tiempo entre la toma, el pretratamiento y la congelación del plasma citratado no excedieron las 4 horas.

Una vez en el laboratorio, las muestras con anticoagulante citrato de sodio fueron homogenizadas y centrifugadas a una velocidad entre 3 200 a 3500 rpm por 15 minutos con el fin de disponer de un plasma pobre en plaquetas; inmediatamente fue separado el plasma en crioviales, identificados con el código asignado y la fecha de la toma de muestra, y reposaron en ultracongeladora -80°C hasta su procesamiento siendo estas custodiadas por la directora del proyecto Mtr. Marcela Mardones en la PUCE.

3.2.6. Materiales, reactivos y equipo

Equipo:

- -Coagulómetro Sysmex CA 600, posee dos técnicas: coagulometría de luz dispersa y turbidimetría mejorada en látex.
- -Baño maría con medio de transferencia de temperatura de agua.
- -Centrífuga de rotor fijo, preparativa y de sobremesa que alcanza hasta las 8000 rpm.
- -Ultracongeladora vertical sobre ruedas con temperatura interna de -72 a -80°C.
- -Pipetas semiautomáticas (10 uL, 100 uL y 1000 uL), previa calibración.
- -Cámara de Neubauer, con dos divisiones cuadrículadas para facilitar el conteo de plaquetas en medios líquidos.
- -Microscopio de campo claro, posee 4 objetivos con sistema de lente cóncavo y convexo para la apreciación de plaquetas en la cámara de Neubauer.

Materiales para toma de muestra sanguínea:

- Agujas 21G y 23G, marca NIPRO para cápsula vacutainer.
- Cápsula vacutainer de plástico.
- Algodón.
- Curitas.
- Tubos al vacío para extracción sanguínea con anticoagulante, citrato de sodio/ 5 mL y tubos con EDTA K2 /3 mL.

Materiales para el análisis:

- Puntas plásticas para pipetas automáticas (10 uL, 100 uL y 1000 uL).
- Tubos plásticos, 12 x 75mm para realizar las diluciones.
- Microtubos plásticos de 1.5 ml.
- Gradillas de plásticas.

Reactivos:

- ACTIN Cefalosporina activada, SIEMENS.
- Reactivo de von Willebrand, SIEMENS.
- Plasma deficiente en FVIII, control patológico SIEMENS.
- Solución cloruro de calcio, SIEMENS.
- Solución salina, preparada en el laboratorio.
- Plasma control normal y patológico, BIORAD “Lypocheck” para coagulación.
- Reactivo Reese Ecker.

3.2.7. Procedimiento

Procesamiento de muestras: Las muestras de plasma y sangre total, fueron preparadas para su procesamiento (Anexo 12). Una vez listas, se realizó el conteo de plaquetas en sangre total por método manual en cámara de Neubauer y la cuantificación de TTP, FVIII y FvW:Ag en el equipo SIEMENS CA-600.

Almacenamiento de plasmas: las muestras de plasma una vez procesadas, se conservaron a una temperatura -80°C de 4 meses, para repetir algún análisis de ser necesario, luego de este período fueron eliminadas. Se debe recalcar que las muestras fueron utilizadas únicamente para el presente estudio y no se realizaron otras pruebas adicionales al igual de

las muestras de sangre total que fueron conservadas de 2 a 8 °C por una semana en caso de ser necesario repetir el conteo de plaquetas.

Eliminación de muestras biológicas: cumplido el tiempo establecido de almacenamiento de los plasmas en congelación y de acuerdo con el Reglamento para el manejo de desechos infecciosos de la Red de Servicios de Salud en el Ecuador del año 2016 basado en la OMS, las muestras fueron descongeladas y colocadas en un recipiente con hipoclorito de sodio al 0,01% durante 30 minutos para inactivación de agentes biológicos, posteriormente se vertieron en el lavamanos con corriente de agua para desecharlas(Ver Anexo 13).

Desecho de material: Todo material cortopunzante contaminado con fluidos biológicos fue desechado en envases de plástico boca angosta o recipientes llamados “guardián”. Todo aquel objeto que haya sido contaminado con líquidos biológicos será colocado en fundas de color rojo y etiquetada de acuerdo con lo establecido en el reglamento para manejo de desechos infecciosos; los desechos comunes (sin contaminación de líquidos biológicos) serán desechados en fundas de color negro (Anexo 14).

3.2.8. Resultados, interpretación y reporte

El informe de resultados de los análisis por el laboratorio de cada paciente fue reportado y entregado al personal médico por la investigadora principal a medida que finalizare el procesamiento de cada una de las muestras, es decir que, al terminar de procesar las muestras de las pacientes el resultado fue inmediato para evitar el paso del tiempo en caso de existir la coagulopatía y así esta pueda ser tratada con eficacia y eficiencia por el personal médico, esta información fue proporcionada a las participantes mediante una cita médica que fue solicitada por el personal médico. Cabe resaltar que los resultados fueron entregados al personal médico en formato físico y en sobre cerrado (Anexo 15).

Al finalizar el estudio, y una vez compartido el resultado a las pacientes, se realizará una reunión con el personal de salud de los Centros Médicos Especializados de la Cruz Roja Ecuatoriana con la finalidad de socializar los resultados individuales, resultados generales (análisis estadístico) y conclusiones del estudio. Además se entregará tanto al CEISH-UTE como al MSP el informe final de la investigación.

3.2.9. Control de calidad

Control de calidad TTP: Se utilizan controles internos con plasma normal y plasma patológico adquiridos en la casa comercial SIEMENS para el equipo Sysmex CA 600 siendo establecidos y calibrados los intervalos de referencia de estos al ser medidos al iniciar cada ciclo de ensayo, para determinar valores patológicos y valores normales de controles de calidad, llevando así la gráfica de Levey Jennings para evaluar el comportamiento de cada control en los desvíos estándar (Anexo 16)(Tabla 2 y 3)(Gráfico 5).

Tabla 2

Control de calidad control normal

Control 1 lote: 78491 caducidad: 31/08/2021	
1	25,9
2	24,0
3	25,8
4	25,6

Nota: Resultados obtenidos frente al control de calidad de TTP con control normal.

Fuente. (Bohórquez, 2021).

Tabla 3

Control de calidad control patológico

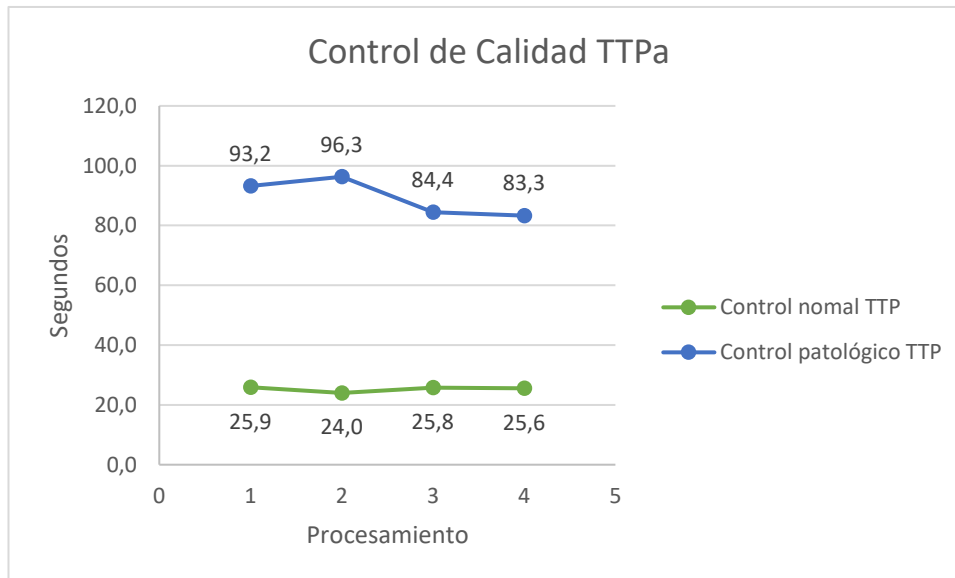
Control 1 lote: 78492 caducidad: 31/08/2021	
1	93,2
2	96,3
3	84,4
4	83,3

Nota: Resultados obtenidos frente al control de calidad de TTP con control patológico

Fuente. (Bohórquez, 2021).

Gráfico 5

Control de calidad prueba TTP



Nota: El control normal y patológico nos indica la capacidad del equipo de leer estos valores. Fuente: (Bohórquez, 2021).

Control de calidad FvW: Ag y FVIII: Se utilizan controles internos con controles internos “1 y 2” llamados así por su nivel de control (normal y patológico) adquiridos en la casa comercial BIORAD adecuado para el equipo Sysmex CA 600 siendo establecidos y calibrados llevando así la gráfica de Levey Jennings para evaluar el comportamiento de cada control en los desvíos estándar (Anexo 16) (Tabla 4 y 5) (Gráfico 6 y 7)

Tabla 4

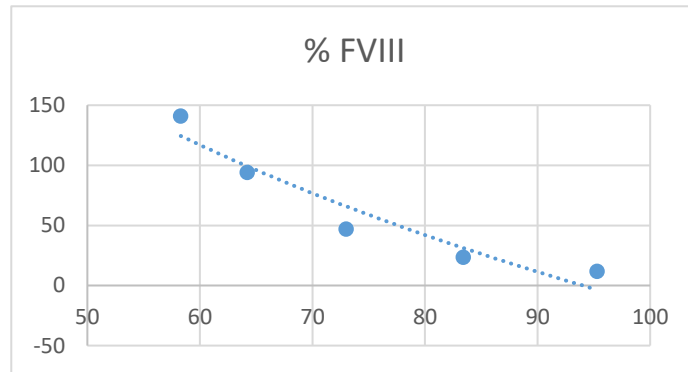
Control calidad FVIII

Fecha	27/12/2020
Segundos	% FVIII
95,3	11,8
83,4	23,5
73,0	47,0
64,2	94,0
58,3	141,0

Nota: Esta figura indica la capacidad del equipo de reflejar resultados frente a cualquier concentración y su resultado es en segundos. Fuente: (Bohórquez, 2021)

Gráfico 6

Control calidad FVIII



Nota: Esta figura indica la capacidad del equipo de reflejar resultados frente a cualquier concentración. Fuente: (Bohórquez, 2021).

Tabla 5

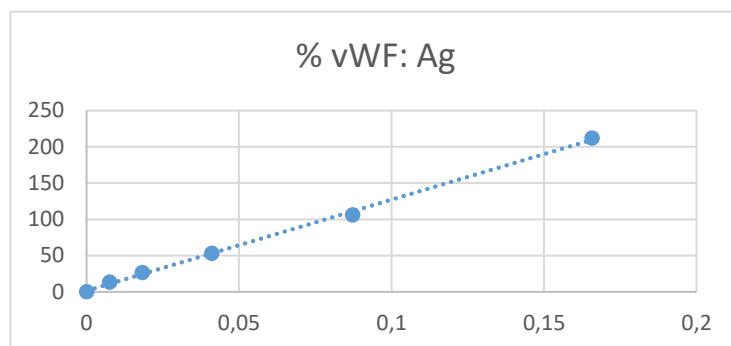
Control calidad FvW: Ag

Fecha	27/12/2020
Densidad óptica	% vWF
0	0
0,0075	13,3
0,0183	26,5
0,041	53
0,0872	106
0,1657	212

Nota: Control de calidad el antígeno de von Willebrand en base a su concentración y densidad óptica. Fuente: (Bohórquez, 2021).

Gráfico 7

Control calidad FvW:Ag



Nota: Gráfico lineal del control de calidad del FvW:Ag. Fuente: (Bohórquez, 2021).

Control interno de conteo manual de plaquetas: El control interno para métodos cuantitativos se basa en la dilución que se realiza dentro del protocolo para conteo manual de plaquetas (1:100), por lo tanto, la calibración de pipeta automática será de suma importancia para verificar que el volumen tomado tanto del reactivo utilizado y muestra de sangre total (con anticoagulante EDTA) para ello se aplicará la ISO 8655 para calibración de pipetas. Una vez que se establezca que la pipeta automática no generará fuentes de incertidumbre se realizará un conteo manual con control adquirido en la casa comercial una vez establecidos los valores referenciales. Adicional a esto, para el análisis de concordancia del observador para el conteo de plaquetas al microscopio, se realiza el índice Kappa Cohen, mismo que resultó establecer una concordancia buena (Tabla 6) (Anexo 17).

Tabla 6

Índice de concordancia conteo de plaquetas – Índice Kappa Cohen

Proporción Total Observada de Concordancia	% total de concordancia esperada por azar	Zalfa/2(0,05)	Índice Kappa	Límite Inferior del Índice Concordancia (5%)	Límite Superior del Índice Concordancia (95%)
Po	Pe	IC	kappa		
85%	37%	0,09	1,96	0,60	0,42
					0,78

Nota: Resultado del análisis de coincidencia Kappa Cohen. Fuente: (Bohórquez, 2021).

3.2.10. Manejo de la información y análisis de datos

El código alfanumérico se utilizó para cada paciente que desee participar y que haya sido seleccionada para el estudio, construido con la inicial del primer nombre, la inicial del apellido, la fecha de la toma de muestra (día- mes-año) (Ej.AB01042020), tanto en el cuestionario, los tubos de extracción sanguínea y almacenamiento, como en la matriz de recolección de información, con la finalidad de asegurar la confidencialidad de la información.

Los códigos y los identificadores (nombres y apellidos completos) se guardaron en una lista que estuvo bajo el resguardo de la directora del trabajo de titulación. Lista que se trabajó en formato físico y electrónico, la primera se archivó en una carpeta y se guardó en la oficina de la directora y el electrónico en el disco duro de la computadora de la oficina y un flash memory de la directora del estudio, archivos electrónicos que tendrán clave de acceso y que podrán ser utilizados por la investigadora previa autorización de la directora.

La matriz de recolección de información se elaboró con ayuda de una hoja electrónica en Excel versión 10 Pro, en la que constó el código asignado a cada paciente y los datos obtenidos del cuestionario y de los análisis de laboratorio, la misma que se guardó en el disco duro de la computadora de la oficina de la directora del estudio y en una unidad portátil (Disco duro externo) de la investigadora principal (estudiante). Esta información fue trasladada al programa SPSS V25.0 manteniendo el código asignado a cada paciente y sin identificadores (nombres y apellidos) en este se obtendrán las frecuencias absolutas y relativas manejando estadística descriptiva básica y correlación de las variables.

Conservación de la base de datos: el tiempo que se almacenará la lista que conecta el identificador con el código, la matriz de recolección de información y la base de datos creada en Excel es de siete años, luego de lo cual se destruirá todo documento físico y se borrará de toda computadora o unidad externa todos los datos, asegurándose que no se encuentre ningún archivo en la papelera de reciclaje o como archivo oculto.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS

4.1. Descripción de la muestra

La población incluida en el estudio fué 100% adolescentes entre 10 y 19 años que presentaron hipermenorrea durante su periodo menstrual, siendo las de mayor frecuencia pacientes en el intervalo de edad de 16 a 19 años. De las 113 pacientes adolescentes, el mayor porcentaje 50,4% corresponde a edades comprendidas entre los 16 y 19 años, 38,1% a pacientes entre los 11 y 15 años y finalmente con el 11,5% corresponde al grupo etario de 8 a 10 años (Tabla 7) (Gráfico 8).

Tabla 7

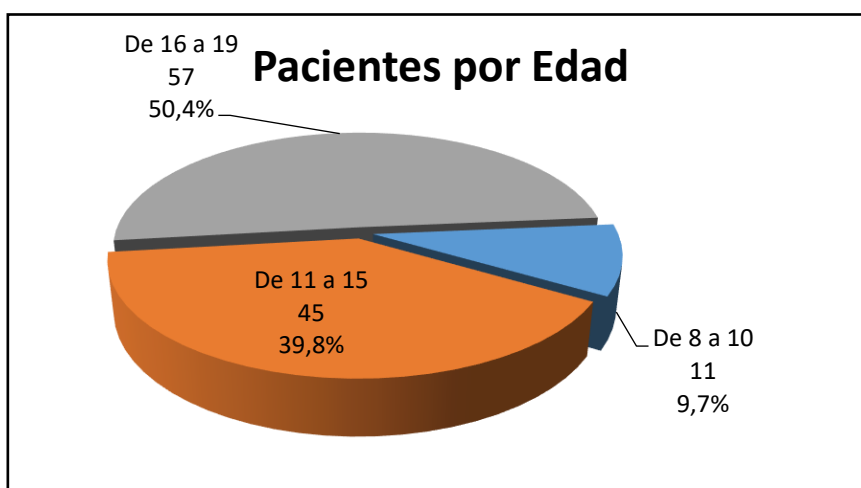
Intervalos de edades en pacientes con hipermenorrea.

Años	No. Pacientes	Porcentajes
De 8 a 10	11	9,7%
De 11 a 15	45	39,8%
De 16 a 19	57	50,4%
Total	113	100%

Nota: Tabla de distribución de porcentaje de edades de las pacientes. Fuente: (Bohórquez, 2021).

Gráfico 8

Distribución por porcentajes de los intervalos de edad



Nota: Distribución gráfica y porcentual de intervalos en edades. Fuente:(Bohórquez, 2021)

4.2. Contaje de plaquetas

El 95% de los pacientes presentó un contaje dentro de parámetros normales (150 000 a 450 000/mm³) mediante la metodología manual, 3% presentó un contaje de plaquetas menores a 150 000/mm³ y 1% el contaje de plaquetas superior a los 450 000/mm³ (Tabla 8) (Gráfico 9).

Tabla 8

Porcentaje de pacientes por intervalo de referencia contaje de plaquetas.

Plaquetas	Pacientes	Porcentajes
Menores a 150 000	2	2%
150 000- 450 000	108	96%
Mayor a 450 000	1	1%
*	1	1%
Total	113	100%

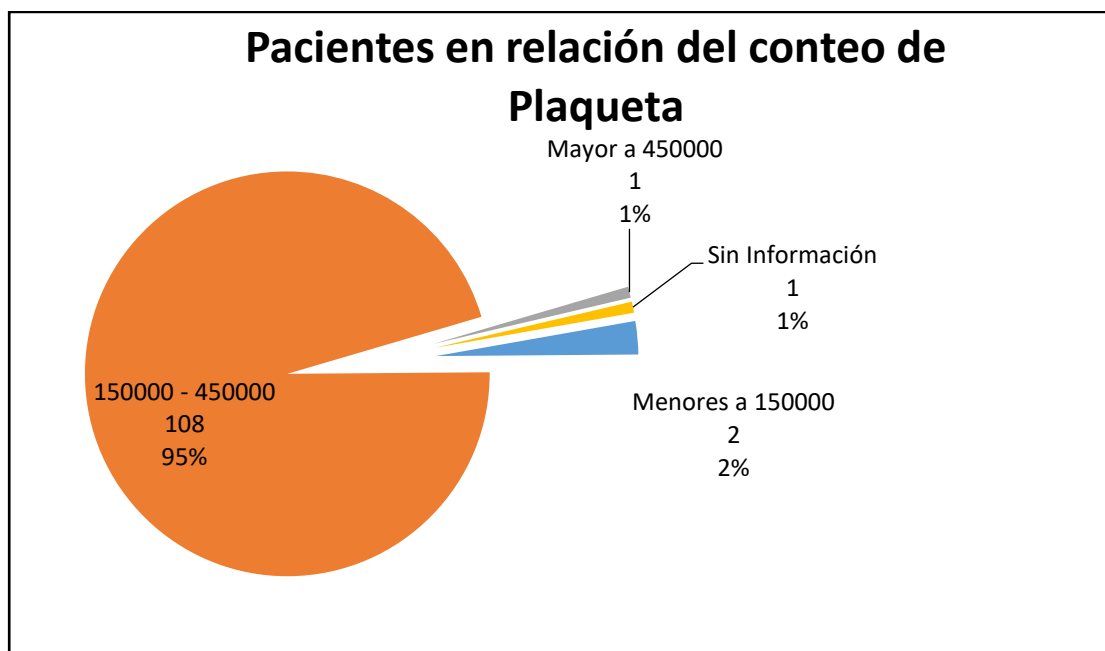
***Sin información: toma de muestra complicada**

Nota: Porcentaje de pacientes por intervalo de referencia contaje de plaquetas. Fuente: (Bohórquez, 2021).

O COLOCAS ESPACIO O QUITAS A TODOS

Gráfico 9

Distribución por porcentaje por intervalo de referencia- contaje de plaquetas.



Nota: Distribución porcentual de contaje de plaquetas. Fuente:(Bohórquez, 2021)

4.3.Evaluación del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTP)

El análisis de TTPa se realizó en su totalidad a las 113 pacientes, 59% de las pacientes están dentro del intervalo de referencia de esta prueba, el 13% de las adolescentes presentaron tiempos disminuidos menor a 25 segundos y el 27% de las adolescentes muestran un TTP prolongado mayor a 35 segundos (Tabla 9) (Gráfico 10).

Tabla 9

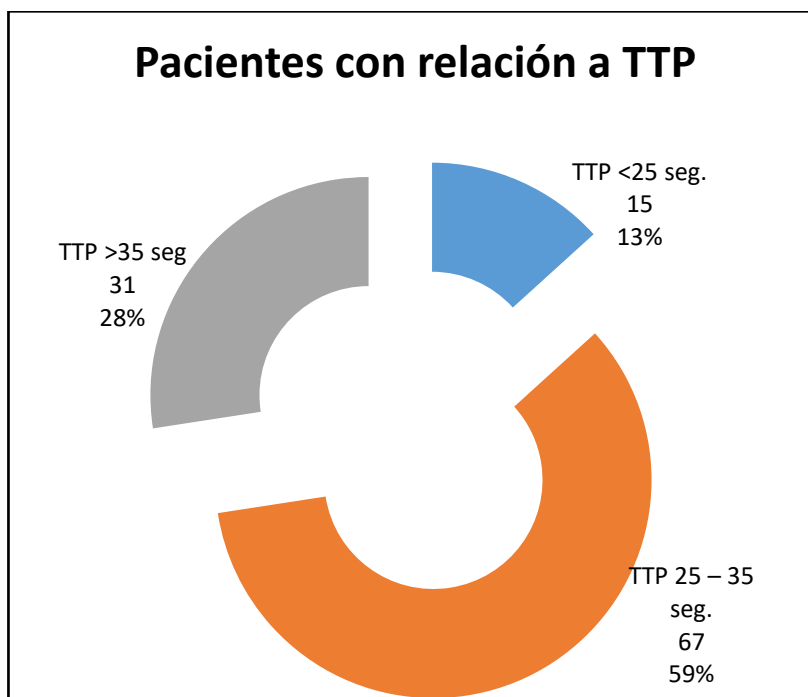
Análisis de TTP en porcentaje por número de pacientes

TTP	Pacientes	Porcentajes
TTP <25 seg.	15	13%
TTP 25 – 35 seg.	67	59%
TTP >35 seg	31	27%
Total	113	100%

Nota: Número de pacientes por resultados obtenidos en la prueba de TTP. Fuente: (Bohórquez, 2021).

Gráfico 10.

Distribución por porcentaje de resultados en TTP



Nota: Distribución porcentual resultados de TTP. Fuente: (Bohórquez, 2021).

4.4. Cuantificación del Factor anti- hemofílico A (FVIII)

En relación al estudio del FVIII, se identificó que el 96% de las pacientes se presentaron valores dentro del intervalo de referencia 50 a 150% y solamente el 4% presenta valores disminuidos, adicionalmente se observó que las pacientes con FVIII disminuido, presentaron edades entre 12 y 19 años (Tabla 10) (Gráfico 11). Se evaluó la relación existente del FVIII con el FvW:Ag en radio calculado, si el resultado tiene un radio menor a 0.7 la adolescente podría ser portadora de hemofilia, o tener un subgrupo del tipo de EvW Normandia r EvW (Tabla 11).

Tabla 10

Porcentaje por pacientes e intervalo de referencia de cuantificación de FVIII

FVIII	PACIENTES	PORCENTAJE
Disminuido: FVIII <50%	5	4%
Rango de referencia: FVIII	108	96%
50% - 150%	113	100%
Total		

Nota: Porcentaje de pacientes que cumplen los distintos intervalos de evaluación. Fuente: (Bohórquez, 2021).

Tabla 11

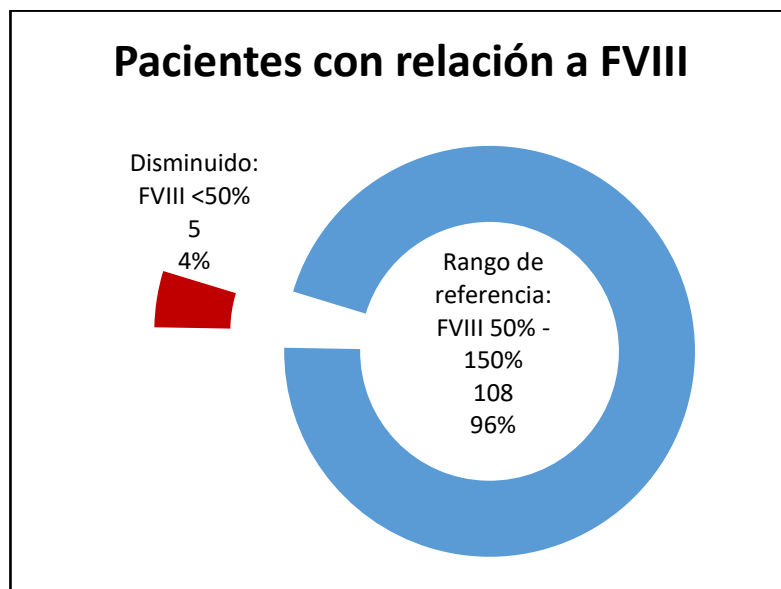
Relación del FVIII y FvW: Ag, cálculo de radio.

FVIII %	FvW:Ag	Radio FVIII:C/FvW:Ag
47,6	82,6	0,57
49,4	163,7	0,30
49,3	186	0,26
47,3	111,9	0,42
47,4	100,6	0,47

Nota: La relación entre FVIII: C/FvW:Ag nos indica que si el valor es >0,7 la paciente puede presentar EvW, mientras que si el valor es <0,7 esta puede ser posible portadora de hemofilia. Fuente: (Bohórquez, 2021).

Gráfico 11

Distribución de pacientes con relación a la cuantificación de FVIII.



Nota: Distribución porcentual de pacientes con deficiencia de FVIII.

4.5. Cuantificación del Antígeno de Factor de von Willebrand (FvW:Ag).

De las adolescentes $n=113$ que se sometieron al estudio de FvW:Ag, el 85% se encuentran dentro del intervalo de referencia (50% - 150%), el 12% un factor disminuido de FvW:Ag menor a 50%, lo que implicaría una sospecha de que estas pacientes padezcan de EvW, solamente el 3% de las $n=113$ adolescentes pacientes tiene un FvWAg mayor a 150% (Tabla 12) (Figura 12).

Tabla 12

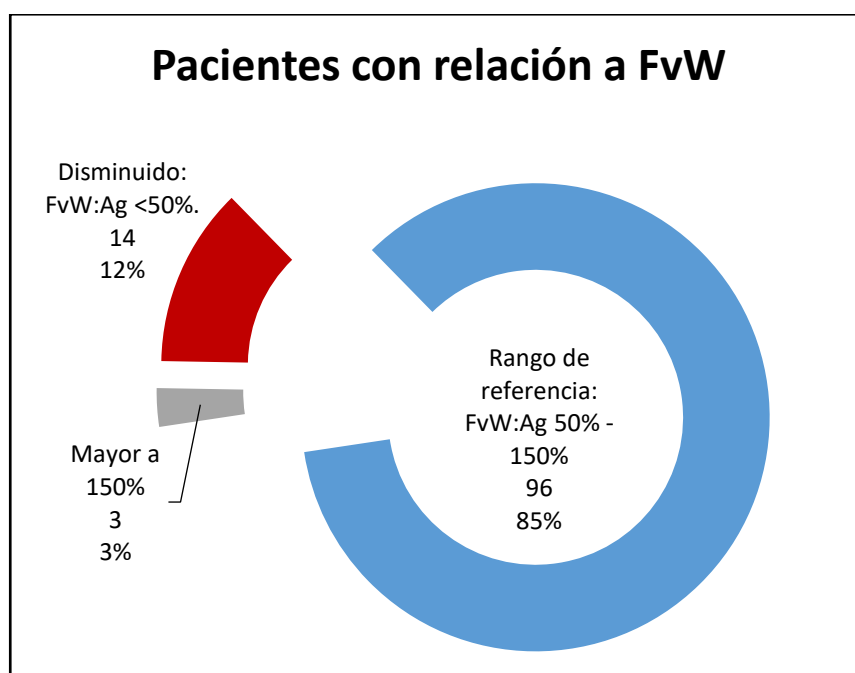
Porcentaje por pacientes e intervalo de referencia de cuantificación de FvW:Ag.

FvW Ag	PACIENTES	PORCENTAJES
Disminuido: FvW:Ag <50%.	14	12%
Rango de referencia: FvW:Ag 50% - 150%	96	85%
Mayor a 150%	3	3%
Total	113	100%

Fuente: (Bohórquez, 2021).

Gráfico 12

Distribución de pacientes con relación a la cuantificación de FvW: Ag.



Fuente: (Bohórquez, 2021).

4.6. Relación entre prolongación de TTPa vs. disminución FVIII y prolongación de TTP vs. disminución FvW: Ag.

Se identificaron 5 pacientes con FVIII bajo, el valor de referencia corresponde a 50-150%, sin embargo, una vez que estos son correlacionados a una prolongación del TTP (> 35 segundos), encontramos a 0% de pacientes que se relacionen frente a estas condiciones.

De 14 pacientes identificadas con FvW:Ag bajo, el valor de referencia que de 50-150%, se encontró 100% de las pacientes están correlacionadas a una prolongación del TTP > 35 segundos.

4.7. Correlación de preguntas ponderadas del cuestionario y disminución FvW: Ag.

El cuestionario aplicado a las adolescentes manejó preguntas tomadas desde la Sociedad de hematología y de la Federación Mundial de Hemofilia, para conocer acerca de los signos adicionales que estas presentaban a lo largo de su vida, entre ellos: presencia de espistaxis, presencia de moretones y características de sangrado durante cirugías. De igual manera se

aplicó preguntas con relación a la hipermenorrea en base a la duración de periodo menstrual y características de sangrado.

En base a la correlación de signos y la evaluación del cuestionario aplicado, las pacientes que evidencian hipermenorrea en conjunto con signos y variables que correlacionan a una franca EvW, comprendidas en edades de 16 a 19. Adicionalmente $n=3$ (21,4%) de las pacientes que presentan el FvW:Ag disminuido, presentan hipermenorrea en conjunto con signos severos que determinan la EvW, $n=8$ (57.1%), presentaron signos moderados como epistaxis y hematomas, posteriormente aquellas que padecen de hipermenorrea pero, no presenta signos adicionales a la hipermenorrea, pertenecen al 21,4% con FvW:Ag disminuido, por otro lado se realizó el análisis de Chi cuadrado, $p= 5,99$ nos indica la significancia clínica entre la deficiencia de FvW y las preguntas del cuestionario referentes a hipermenorrea(Tabla 13) (Figura 13).

Tabla 13

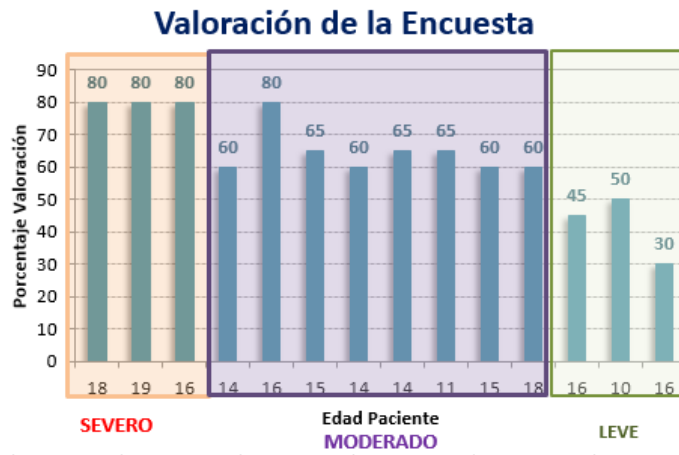
Tabulación de preguntas ponderadas con pacientes que mantienen el FvW: Ag disminuido.

Paciente	Características		Sangrados por la Nariz	Presencia de Moretones	Sangrado Menstrual mayor a 7 día	Presencia Coágulos en período Menstrual	Fuerte Sangrado Vaginal fuera periodo menstrual	Sangrado Abundante Menstrual	Sangrado abundante después de cirugías	Valoración de la Encuesta
No.	EDAD	FvW: Ag%	Preg. 1	Preg. 3	Preg. 13	Preg. 16	Preg. 17	Preg. 26	Preg. 29	%
5	8	45,6	5	0	20	15	0	20	0	60
11	15	43,8	5	5	0	15	15	20	0	60
12	18	11	5	0	20	15	0	20	0	60
13	14	44,9	5	0	20	15	0	20	0	60
14	14	47,8	5	0	20	15	0	20	0	60
16	15	12,3	5	5	20	0	15	20	0	65
36	8	14,3	5	5	20	15	0	20	0	65
37	18	6,3	5	5	20	15	15	20	0	80
42	11	24,7	5	5	20	15	0	20	0	65
84	10	34,2	5	0	20	0	15	10	0	50
90	16	5,5	5	5	20	0	0	0	0	30
95	19	0,8	5	5	0	15	15	20	20	80
97	16	46	5	0	0	0	15	20	20	60
102	16	28,4	5	5	20	15	15	20	0	80

Nota: Tabulación de las preguntas contestadas en el cuestionario por las adolescentes que presentaron FvW: Ag disminuido. Fuente (Bohórquez, 2021).

Gráfico 13

Correlación de signos con disminución de FvW: Ag



Nota: el gráfico nos indica la posibilidad de apreciar los resultados obtenidos en la tabulación de los cuestionarios en base a la severidad de los mismos, donde, se las clasifica por signos severos, moderados y leves. Fuente: (Bohórquez, 2021).

DISCUSIÓN

La hipermenorrea es una condición desconocida y poco tratada que influye en el periodo menstrual y afecta a mujeres en edad fértil, sin embargo esta puede llegar a causar problemas en la calidad de vida si no reciben un tratamiento temprano (Merchán Lizbeth, Sánchez Patricia, & Alves Luisa, 2017). La severidad de la EvW en las adolescentes con hipermenorrea viene acompañada de los signos y antecedentes que debe ser evaluado por el médico, científicamente la EvW relacionada a hipermenorrea corresponde en adolescentes entre 8 a 13% frente a todas las causas de hipermenorrea existentes (Woods Adriana, Blanco Alicia, Kempfer Ana, Paiva Juvenal, & Bermejo Emilse, 2016) (Khamees, Klima, & O'Brien, 2015). Científicamente Khamees en el 2015, indica que el diagnóstico de la hipermenorrea asociada a la EvW, tiene un tiempo promedio para que las adolescentes acuda y sea evaluada por el especialista entre 4 y 16 años, es decir, las pacientes no le dan importancia a la presencia de hipermenorreas presente; una de las razones para que suceda esto es porque familiarmente esta condición ha venido a través de generaciones. Uno de los propósitos de esta investigación es que se busque que esta condición tenga más importancia y así, la frecuencia de mujeres diagnosticadas a tiempo podría aumentar. (Karaman et al., 2016) (Khamees et al., 2015). En los resultados obtenidos en el presente estudio, se corrobora en base a la investigación realizada por Khamees y Karaman en los años 2015 y 2016 respectivamente, que, indica que las adolescentes que se sometieron a las pruebas de tamizaje, el 9,7% corresponde a las adolescentes más jóvenes en un intervalo de edad de 8 a 10 años, lo que concluye es que, mientras más jóvenes sean, menos adolescentes verán la necesidad de acudir a un médico, el 39,8% de 11 a 15 años y finalmente la mitad de las pacientes del estudio 50,4% 16 a 19 años, buscan un criterio médico para encontrar una respuesta a la presencia de este signo. En cuanto a lo descrito por Espitia en 2016 mientras más pronto sea el diagnóstico, más pronto será la capacitación y terapia para estas pacientes, manejo de la enfermedad y planificación familiar, que es exactamente lo que se buscó en la investigación realizada por Espitia con adolescentes.

El análisis de las pruebas de laboratorio aplicadas en este estudio, arrojan resultados importantes para la toma de decisiones frente a la relación que puede llegar la EvW para conocer el comportamiento de los sangrados. Una vez relacionadas las variables se obtuvo que, 1,76% (n=2) del total de la muestra presenta valores inferiores al intervalo de referencia

normal, las mismas que al relacionar con la cuantificación de FVIII, no presentan valores disminuidos al intervalo de referencia, al relacionarlas con la cuantificación de FvW:Ag, una (n=1) presenta valores disminuidos al 50% de FvW:Ag en conjunto con disminución del conteo de plaquetas, corroborando los datos indicados en el estudio realizado por Lombana en el año 2013. La relación de FvW:Ag disminuido y conteo de plaquetas disminuidas, científicamente ha sido catalogada como una de las principales características para determinar uno de los subtipos de la EvW como es el 2B, en el cual el recuento plaquetario puede verse disminuido, sin embargo esta clasificación requiere de un estudio molecular para llegar a su determinación total en relación a la disminución del conteo de plaquetas que presentó una de las adolescentes en el presente estudio, tal como lo menciona Lin y Chan en el 2016. El recuento plaquetario normal en pacientes con EvW y la disminución de FvW:Ag es común en casi la totalidad de las muestras procesadas, Kuter en el año 2020, señala que el reflejar valores normales en el conteo de plaquetas es completamente normal, lo que se debe a que esta enfermedad congénita no se relaciona con la falta de plaquetas sino, por la funcionalidad de las mismas debido a la falta del FvW en la membrana de las plaquetas (Lombana, Ramos-Ramos, & Torres, 2013)(Kuter, 2020). De la población estudiada el 96% (n=108) de pacientes, presentaron valores normales del recuento plaquetario, donde 12,5% (n=13) de aquellas, obtuvieron una cuantificación de FvW: Ag disminuida, lo que indica que deben ser evaluadas de manera más detallada con respecto a otras pruebas que permitan su diferenciación.

El análisis del tiempo de tromboelastina parcial activado (TTP), hace énfasis en ser una prueba global que nos facilita la comprobación de factores de coagulación entre ellos: Factor IX de la coagulación, Factor antecedente tromboelastínico del plasma XI, Factor XII y factor VIII (Dalmau, 2013)(Martinuzzo M, 2017). La prolongación en el resultado de esta prueba de laboratorio es de gran relevancia clínica, que si se refleja mayor a 35 segundos (según valores referenciales de cada laboratorio) puede deberse por las siguientes causas: disminución de factores de la coagulación pertenecientes a la vía intrínseca y común, presencia de anticuerpos neutralizantes en la muestra del paciente, en la investigación, 27% (n=30) de las pacientes presentaron un TTP alargado y al relacionarlas con la prueba de FvW;Ag se encontraron disminuido. Woods en el año 2016, menciona que la Enfermedad de von Willebrand puede presentar una prueba de TTPa normal, tomando en cuenta que esta prueba al pertenecer al grupo de pruebas básicas, resulta ser general y por ende se debe estudiar a profundidad la persona que presente una FvW:Ag disminuido y un TTPa normal;

en el estudio un paciente presentó esta relación, lo que no descarta la presencia de la enfermedad (Woods Adriana et al., 2016). El FVIII es un cofactor que permite la hemostasia en conjunto con el FvW, por tal razón se evaluó este parámetro con las pacientes del estudio, se obtuvo con la población estudiada, 4% (n=5) pacientes que presentaron deficiencia del FVIII, sin embargo las mismas pacientes presentaron un nivel de FvW: Ag normal., frente a esta situación es posible realizar un cálculo que llamado radio de FVIII/FvW:Ag el mismo que divide los resultados obtenidos del FVIII y del FvW:Ag de la paciente, si el resultado indica <0.7 a podría ser un subtipo de EvW llamado normandia o tratarse de una portadora de hemofilia, por esto es importante recalcar en estos casos las pruebas de biología molecular (Guadalupe, Padilla-Romo, Jaloma-Cruz, Rebeca, & Cruz, 2014). Con esta información los resultados obtenidos en la tabla 11 determinó que 5 pacientes que presentaron FVIII disminuido se recomendará realizarse otros análisis para saber si confirmar su diagnóstico, por presentar un radio FVIII:C/FvW: Ag < 0.7 .

En el presente estudio el FvW:Ag estuvo disminuido en 14 adolescentes (12%) lo que indica que podría ser un factor para que el paciente presente signos de sangrados estos valores resultan ser de alta significancia clínica cuando, al no presentar gran cantidad de esta glicoproteína, la persona comienza a presentar signos de sangrado, y estos resultan ser más graves según qué tan disminuido se encuentre este factor. Científicamente el FvW se encuentra más disminuido aún en pacientes con grupo sanguíneo "0" Rh, esto se debe a la glicosilación de la molécula del FvW lo que facilitará su llegada a la enzima metaloproteasa, y causará que este factor disminuya en cantidad significativa (Márquez-Benítez, Lancheros-Silva, & Díaz-Chaves, 2019). Estudios han indicado que la población ecuatoriana posee en su mayoría, el grupo sanguíneo "0" Rh Positivo lo que nos asegura que dentro de esta investigación, influye en que existan pacientes con este grupo sanguíneo, el cual al relacionarse con el FvW:Ag se encuentra disminuido de los intervalos de referencia normales (Ortiz, 2017). El estudio realizado por Benítez en el año 2019 nos indica que la disminución en la cuantificación de FvW:Ag en plasma en pacientes con grupo "0" se encuentra entre el 30% a 50% y no necesariamente el paciente presenta sangrados teniendo una pequeña disminución en el FvW:Ag (Benítez, 2019).

El estudio realizado por Jaramillo en el año 2019, establece que la aplicación de una encuesta que evalúe signos de tendencia hemorrágica, ayudan a conocer la severidad de la EvW, por ello, cada una de las preguntas en el cuestionario aplicado a las adolescentes facilitó el

conocimiento sobre signos presentados a lo largo de su vida, signos de tendencia hemorrágica adicionales a la hipermenorrea; las preguntas más relevantes hicieron énfasis en investigar las características de sangrado en epistaxis, presencia de hematomas, comportamiento en cirugías y durante el periodo (Jaramillo, 2019). Al relacionar en la investigación el FvW:Ag de las 14 pacientes, 21% (n=3) de ellas padecían de una EvW con signos relevantes y el FvW:Ag en un intervalo de 0,8 a 10%, mientras que el 57% (n=8) el FvW:Ag se encuentra disminuido, con signos moderados de sangrado y finalmente, el 21% (n=3) de las pacientes con FvW:Ag disminuido no presentan signos de sangrado relevantes aparte de la hipermenorrea lo que puede relacionarse con el grupo sanguíneo de las personas y podría ser un factor significativo para que el FvW:Ag esté disminuido, sin embargo los estudios deben ser mayores para su diagnóstico y proporcionar el tratamiento adecuado para EvW.

Los resultados reflejados en este estudio, dieron pautas para llegar al diagnóstico de la EvW en pacientes con hipermenorrea, por lo que es de suma importancia el trabajo en conjunto con especialista y el laboratorio para permitir que el diagnóstico completo de la EvW en estas pacientes sea realmente adecuado para realizar un manejo correcto de la hipermenorrea y signos de sangrado adicionales.

CONCLUSIONES

La prevalencia de adolescentes con hipermenorrea y deficiencia del FvW, fue del 12%, y está relacionado con los signos de sangrado abundante menstrual.

La prueba de tiempo de tromboplastina parcial activado como *screening* o tamizaje es una prueba global que permite determinar deficiencia de factores de la vía intrínseca en pruebas *in vitro*, mientras que la prueba de FVIII y de FvW: Ag evalúan cantidad de molécula presente.

La prueba de TTPa es una prueba de ayuda en el laboratorio, pero no siempre está prolongada en la EvW solamente cuando existe disminución de la molécula de FVIII.

El radio obtenido FVIII:C/FvW:Ag, determinó que cinco adolescentes son posibles portadoras de hemofilia o un subgrupo de EvW llamado Normandía, estas pacientes requieren estudios con pruebas que verifiquen su diagnóstico.

La relación entre el déficit de FvW:Ag y los signos de sangrado evaluado en el cuestionario fueron estadísticamente significantes, de esta manera se corrobora la necesidad de realizar una adecuada entrevista por parte del médico a las adolescentes que presenten hipermenorrea.

RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar de manera prioritaria, estudios epidemiológicos para evaluar la prevalencia de EvW asociada a hipermenorrea a nivel nacional, evitando así que más adolescentes en edad fértil lleguen a verse afectadas en su calidad de vida.

Las pruebas de laboratorio tales como conteo de plaquetas, TTP, FVIII y FvW: Ag deben ser utilizadas como tamizaje a pacientes con hipermenorrea que acuden por primera vez a consulta médica solo así se tendrá un indicio desde el principio que la causa de base de la hipermenorrea sea una coagulopatía.

Se recomienda que el personal de laboratorio utilice algoritmos de detección de la enfermedad y guías de procedimiento que se deberán seguir en el laboratorio.

Se recomienda en el laboratorio de especialidad las pruebas básicas, de primer nivel y de segundo nivel que incluyen las pruebas moleculares.

Se recomienda establecer protocolos a nivel nacional para la detección de coagulopatías, lo que permitirá asociar la hipermenorrea a una coagulopatía.

Se recomienda nuevos estudios que clasifiquen a la EvW, profundizando cada una de las pruebas que conllevan al diagnóstico de esta enfermedad congénita.

BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez, Teresa. (2016). h ms. parámetros diagnósticos de diagnósticos de la hemofilia y de la enfermedad von willebrand von willebrand. Recuperado de: https://www.sefh.es/sefhjornadas/16_DRA_Alvarez_Roman.pdf
- Battle, J. (2014). Patología molecular del Factor de Von Willebrand. Retrieved July 11, 2018, from <https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/8580/CC-06art3ocr.pdf?sequence=1>
- Bermejo, E. (2017). *Plaquetas Platelets Bermejo E.*
- C, D., & Martinuzzo M. (2012). Actividad de Factor von Willebrand. *LABORATORIO HEMATOLOGIA*, 16(1), 47–48. Retrieved from <http://www.sah.org.ar/revista/numeros/vol16.n1.47-48.pdf>
- Dalmau, A. (2013). *FISIOLOGIA DE LA HEMOSTASIA*. Retrieved from http://www.scartd.org/arxius/hemostasia_05.pdf
- Díaz, A. (2014). *Revista cubana de hematología, inmunología y hemoterapia*. Retrieved from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892004000100005
- EHC. (2019). Round Table of Stakeholders on Women and Rare Bleeding Disorders. *Women and Rare Bleeding Disorders*. Frankfurt.
- Flores, O., & Katherine, D. (2017). "PREVALENCIA DEL ANTÍGENO D DEL FACTOR RH, COMO MARCADOR DE GENES DE ASCENDENCIA INDÍGENA MEDIANTE LA TÉCNICA DE.
- FMH. (2012). Tratamiento de la EvW - World Federation of Hemophilia. Retrieved April 26, 2018, from <https://www.wfh.org/es/page.aspx?pid=963>
- Francisco, L., & Achard Arturo. (2017). Sangrado Uterino por trastornos de la coagulación. In *Sangrado uterino anormal diagnóstico y tratamiento* (1st ed., pp. 55–63). Quito.
- Govorov, I., Ekelund, L., Chaireti, R., Elfvinge, P., Holmström, M., Bremme, K., & Mints, M. (2016). Heavy menstrual bleeding and health-associated quality of life in women with von willebrand's disease. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 11(5), 1923–1929. <https://doi.org/10.3892/etm.2016.3144>
- Guadalupe, M., Padilla-Romo, Z., Jaloma-Cruz, A. R., Rebeca, A., & Cruz, J. (2014). *Algoritmo diagnóstico para la enfermedad de von Willebrand (EvW) en población mexicana GACETA MÉDICA DE MÉXICO BIOLOGÍA MOLECULAR Y MEDICINA*. Retrieved from <http://www.medigraphic.com/pdfs/gaceta/gm-2015/gm153p.pdf>
- Hacioglu, S., Karabulut, A., Sari, I., & Keskin, A. (2016). Haemostatic disorders in reproductive age women with menorrhagia and effects on quality of life. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 36(8), 1041–1045. <https://doi.org/10.1080/01443615.2016.1196168>
- Hapangama, D. K., & Bulmer, J. N. (2016). Pathophysiology of heavy menstrual bleeding. *Women's Health*, 12(1), 3–13. <https://doi.org/10.2217/whe.15.81>

- ISO. (2002). ISO 8655 -. Retrieved January 21, 2020, from <https://ttelaboratories.com/iso-8655/>
- Jacobson, A. E., Vesely, S. K., Koch, T., Campbell, J., & O'Brien, S. H. (2018). Patterns of von willebrand disease screening in girls and adolescents with heavy menstrual bleeding. *Obstetrics and Gynecology*, *131*(6), 1121–1129. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000002620>
- Jaramillo, L. (2019). El papel de la enfermedad de von Willebrand en la hemorragia uterina anormal. Retrieved February 5, 2021, from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-600X2019000400009&lng=es&nrm=iso
- Joseleg, C. (2012). LAS PLAQUETAS O TROMBOCITOS. Retrieved February 27, 2019, from <http://cienciasdejoseleg.blogspot.com/2012/10/las-plaquetas-la-coagulacion-y-la.html>
- Karaman, K., Ceylan, N., Karaman, E., Akbayram, S., Akbayram, H. T., Kaba, S., ... Öner, A. F. (2016). Evaluation of the Hemostatic Disorders in Adolescent Girls with Menorrhagia: Experiences from a Tertiary Referral Hospital. *Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion*, *32*(3), 356–361. <https://doi.org/10.1007/s12288-015-0583-5>
- Khamees, D., Klima, J., & O'Brien, S. H. (2015). Population screening for von Willebrand disease in adolescents with heavy menstrual bleeding. *Journal of Pediatrics*, *166*(1), 195–197. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2014.09.026>
- Kuter, D. (2020). Disfunción plaquetaria - Trastornos de la sangre - Manual MSD versión para público general. Retrieved January 21, 2020, from <https://www.msdmanuals.com/es/hogar/trastornos-de-la-sangre/trastornos-de-las-plaquetas/disfunción-plaquetaria>
- Lombana, M. A., Ramos-Ramos, G., & Torres, A. M. (2013). Utilidad del PFA-100 en una población colombiana como método de tamizaje en enfermedad de von Willebrand y trastornos de la función plaquetaria. *Artículo Original Rev Hematol Mex*, *14*(2), 71–77. Retrieved from <http://www.medigraphic.com/pdfs/hematologia/re-2013/re132d.pdf>
- Márquez-Benítez, Y., Lancheros-Silva, A. M., & Díaz-Chaves, E. (2019). Grupos sanguíneos y su relación con los niveles plasmáticos del Factor de von Willebrand. *Universidad y Salud*, *21*(3), 277–287. <https://doi.org/10.22267/rus.192103.165>
- Martinuzzo M. (2017). *Sistema de coagulación Blood Coagulation System Physiology*.
- Merchán Lizbeth, Sánchez Patricia, & Alves Luisa. (2017). Coagulopatías en mujeres. *Técnica Especializada de La Cuenta de Alto Conocimiento*, *3*. Retrieved from https://cuentadealtocosto.org/site/images/Publicaciones/boletines/2017/CAC_CO_2017_04_17_BOLTEC_V3N9_dm-hemofilia_V_0_A2.pdf
- Mexicana de Cirugía, A., & México Hernández-Zamora, A. (2015). *Cirugía y Cirujanos*. <https://doi.org/10.1016/j.circir.2015.05.010>
- MSP. (2016). *Diagnóstico y tratamiento de la hemofilia congénita*. Retrieved from https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2017/03/MSP_Guía_hemofilia-

congénita_230117_D-3-1.pdf

- MSP. (2017). *Lineamientos para el manejo de muestras biológicas y químicas*.
- Seravalli, V., Linari, S., Peruzzi, E., Dei, M., Paladino, E., & Bruni, V. (2013). Prevalence of Hemostatic Disorders in Adolescents with Abnormal Uterine Bleeding. *Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology*, 26(5), 285–289. <https://doi.org/10.1016/j.jpag.2013.06.003>
- Stufano, F., Baronciani, L., & Peyvandi, F. (2017). *DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE VON WILLEBRAND CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA*. Retrieved from <http://www1.wfh.org/publications/files/pdf-1694.pdf>
- Torres, R., Zajer, C., Menéndez, M., Canessa, M. J., Cerda, J., Wietstruck, M. A., & Zúñiga, P. (2017). El sangrado menstrual excesivo afecta la calidad de vida en adolescentes Heavy menstrual bleeding affects quality of life in adolescents. *ARTÍCULO ORIGINAL Rev Chil Pediatr*, 88(6), 717–722. <https://doi.org/10.4067/S0370-41062017000600717>
- Woods Adriana, Blanco Alicia, Kempfer Ana, Paiva Juvenal, & Bermejo Emilse. (2016). Factor von Willebrand y Enfermedad de von Willebrand: nuevos enfoques diagnósticos. *Acta Bioquím Clín Latinoam*, 50(2), 273–289. Retrieved from <http://www.scielo.org.ar/pdf/abcl/v50n2/v50n2a12.pdf>

ANEXOS

ANEXO 1: CARTA DE INTENCIÓN PARTICIPACIÓN EN PROYECTO.



**Cruz Roja
Ecuatoriana**
Centros Médicos Especializados

Quito DM, 08 de enero del 2019

Sr.

Francisco Pérez Pazmiño

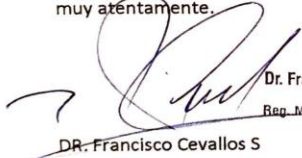

DECANO DE LA FACULTAD DE MEDICINA – PUCE

Presente

Estimado Sr. Decano

Por medio de la presente, quiero poner en su conocimiento de que el Servicio de Hematología de la CRUZ ROJA ECUATORIANA-Centros Médicos Especializados; estamos de acuerdo en participar dentro del **Proyecto “Determinación de la Enfermedad de Von Willebrand en adolescentes con Hipermenorrea en un Centro Médico Especializado de la Ciudad de Quito, 2019”**.

Seguros desde ya de culminar con el éxito esperado el mencionado Proyecto, me suscribo de Ud muy atentamente.



Dr. Francisco Cevallos Salas
MEDICO
Reg. MSP. L.V. 191 No. 517
CMP: 4524

DR. Francisco Cevallos S

MEDICO HEMATOLOGO CME-CRE

LÍNEA SALUDABLE 1800 009 009 · www.centrosmedicoscruzroja.com.ec

Quito Norte: Matriz, Papallacta Oe1-66 entre Av. 10 de Agosto y Av. La Prensa (Sector la Y) - Tell.: 2 244 7641
Cochapata: Calle Cochapata y José Manuel Abascal - Tell.: 2 225 7666
Carcelén: Calle Alberto Einstein Oe3-862 y Mercedes González Esquina - Tell.: 2 280 0054
Edificio de Cruz Roja Ecuatoriana: Antonio Elizalde E-4-31 y Gran Colombia - Tells.: 2 258 2482 / 2 258 2480
Quito Sur: Barrio Nueva Aurora: Ejército 2, 247D Lote 12-20 y Oe3 (Frente al Hospital Ginecológico Luz Elena Arismendi) - Tell.: 2 366 2072
Bumiñahuí: Olmedo Lote 1 y Av. Abdón Calderón, Sector Sangolquí diagonal a la Escuela Juan Montalvo - Tell.: 2 244 7641 Ext. 141 / 142

ANEXO 2: CARTA DE APROBACIÓN COMITÉ DE ETICA DE INVESTIGACION EN SERES HUMANOS -UTE

Calle Rumipamba S/N Avenida Mariscal Sucre S/N
entre Bourgeois y Atahualpa y Mariana de Jesús

DM Quito, 21 de octubre de 2020
Oficio Nro 083-CEISH-jcm

Nombre del proyecto de Investigación: Determinación de la enfermedad congénita de von Willebrand en adolescentes con hipermenorrea en los Centros Médicos Especializados de la Cruz Roja Ecuatoriana en la ciudad de Quito, 2020
Versión: 5.0.
Investigador Principal: Daniela Bohórquez.
Institución, centro o grupo de investigación: Centros Médicos Especializados Cruz Roja Ecuatoriana
Fecha en que fue sometido a consideración del CEISH: 19-10-2020

De mis consideraciones:

Por medio de la presente el Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos de la Universidad UTE (CEISH UTE) le informa que su solicitud de revisión y aprobación del proyecto de investigación denominado: "Determinación de la enfermedad congénita de von Willebrand en adolescentes con hipermenorrea en los Centros Médicos Especializados de la Cruz Roja Ecuatoriana en la ciudad de Quito, 2020" ha sido aprobada con fecha de hoy 21 de octubre de 2020, con revisión del pleno.

El CEISH UTE revisó los siguientes documentos para la aprobación del presente proyecto:

Nombre del documento	Número de hojas
Formulario para la presentación de protocolos de investigación	14
Formulario de Consentimiento Informado (Anexo 2)	3
Formulario de Asentimiento informado (Anexo 3)	3
Instrumentos de investigación Anexo 1.1. Cuadro operacionalización Anexo 1.4. Cuestionario para pacientes Anexo 4 Cuestionario para pacientes con posibles coagulopatías.	1 1 4
Hoja de vida de los investigadores Anexo 5	10
Otra información relevante (especificar)	
Anexo 1.2. Carta de intención participación en proyecto	1
Anexo 1.3. Afiche de reclutamiento de Pacientes	1
Anexo 1.5. Condiciones preanalíticas previo a toma de muestra	1
Anexo 1.6. Manual Toma de Muestras basado en CLSI	1
Anexo 1.7. Lista de Cotejo Condición de Muestra	1

Anexo 1.8: Reglamento de tratamiento de muestras	1
Anexo 1.9. Protocolo de manejo de muestras de plasma y sangre total.	1
Anexo 1.10: Insertos de pruebas de laboratorio a realizar.	4
Anexo 1.11: Resumen Norma ISO 8655 Control Gravimétrico	1
Anexo 1.12. Protocolo de eliminación de muestras biológicas	1
Anexo 1.13. Protocolo de eliminación de desechos sólidos contaminados con fluidos biológicos-Basado en MSOP	1
Anexo 1.14. Formato para reporte de resultado	1
Anexo 1.15 Cronograma de trabajo por objetivos	
Anexo 6. Carta de interés del Director Médico en el área de Hematología	1
Anexo 7. Carta de no conflicto de interés	2
Anexo 8- Cronograma del estudio	1
Anexo 9. Presupuesto General del ensayo	1

El Comité consideró que el presente estudio cumple con:

1. Aspectos éticos:

- a. Es válido desde el punto de vista ético. La investigación cuenta con un adecuado balance riesgo/beneficio, minimizando los posibles daños y maximizando los beneficios para los participantes. La investigación se ajusta a los estándares de las buenas prácticas clínicas.
- b. Las medidas para precautelar la integridad y dignidad de los participantes son las adecuadas.

2. Aspectos metodológicos:

- a. Desde el punto de vista metodológico el proyecto de investigación tiene relevancia científica.
- b. La justificación del estudio es válida.
- c. Los objetivos, el método de selección de los participantes, tamaño de la muestra, procedimientos, plan de análisis de datos es adecuada.

3. Aspectos jurídicos:

- a. Desde el punto de vista jurídico el estudio presenta concordancia con la legislación y normativa vigente nacional e internacional.

El investigador ha realizado todas las modificaciones y aclaraciones que le han sido señaladas.

Esta aprobación tiene la duración de un año, después del cual se debe pedir extensión si fuera necesaria.

En toda correspondencia con el CEISH UTE, favor referirse al siguiente código de aprobación: **Von-Will-ADOL-2020-0409**

La Investigadora principal deberá:



SEDE MATRIZ
Calle Rumipamba S/N
entre Bourgeois y Atahualpa

CAMPUS OCCIDENTAL
Avenida Mariscal Sucre S/N
y Mariana de Jesús

- a. **Solicitar la aprobación** de la Dirección Nacional de Inteligencia de la Salud (DIS) cuando el estudio **observacional utilice muestras biológicas de origen humano y con información confidencial/ población vulnerable**, previa a la ejecución del proyecto.
- b. Informar al Comité de cualquier cambio que se proponga introducir en el proyecto. Estos cambios no podrán implementarse sin la aprobación del CEISH UTE.
- c. Informar de la terminación anticipada o suspensión del proyecto de investigación explicando las causas.
- d. Presentar al Comité un informe anual contado a partir de la aprobación de proyecto. Los proyectos que tengan una duración mayor a un año deberán solicitar una extensión de la aprobación, con al menos un mes de anticipación. Para la extensión de la aprobación se tomará en cuenta el informe de avances entregado.
- e. Entregar al término del estudio un informe final de cierre, con la firma de responsabilidad respectiva.

El Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos de la Universidad UTE ha otorgado esta aprobación con base en la información entregada por el investigador, quien al presentarla asumen la veracidad de los documentos entregados. El solicitante de la aprobación es el responsable de aplicar y respetar la información, procedimientos y condiciones expresados en estos documentos aprobados por el Comité.

Atentamente,

JUAN CAMILO MOLINA BOLIVAR
PRESIDENTE
CEISH UTE

ANEXO 3: APROBACIÓN DE PROTOCOLO POR LA DIS-MSP

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA

Coordinación General de Desarrollo Estratégico en Salud
Dirección Nacional de Inteligencia de la Salud

Oficio Nro. MSP-DIS-2020-0456-O

Quito, D.M., 21 de diciembre de 2020

Asunto: Respuesta a la solicitud de evaluación del protocolo MSPCURI000358-3: "Determinación de la enfermedad congénita de Von Willebrand en adolescentes con hipermenorrea en los Centros Especializados de la Cruz Roja Ecuatoriana en la ciudad de Quito, 2020"

Señorita
Daniela Carolina Bohórquez Beltrán
En su Despacho

De mi consideración:

En respuesta al Oficio Nro. MSP-DNSG-2020-14601-E, ingresado al Ministerio de Salud Pública - MSP, el 10 de noviembre de 2020, el que, Daniela Bohórquez Beltrán, en calidad de Investigadora principal, remite el protocolo del estudio observacional denominado: *"Determinación de la enfermedad congénita de von Willebrand en adolescentes con hipermenorrea en los Centros Especializados de la Cruz Roja Ecuatoriana en la ciudad de Quito, 2020"*, codificado por la Dirección Nacional de Inteligencia de la Salud (DIS) como: MSPCURI000358-3 y alcance al oficio antes citado, ingresado mediante MSP-DNSG-2020-16746-E, de 17 de diciembre de 2020, en el que la investigadora, aclara el motivo por el cual no acogió una de las observaciones realizadas en uno de los dos criterios emitidos por el Programa Nacional de Sangre del Ministerio de MSP; contando con la Carta de aprobación del protocolo por parte del Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos reconocido por el MSP (Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos de la Universidad- UTE), cumpliendo los requisitos mínimos para la evaluación de la investigación y contando con uno de los criterios favorables del Programa Nacional de Sangre, se **APRUEBA** la versión adjunta del protocolo y deberá cumplir con las recomendaciones finales realizadas en el informe adjunto.

El presente estudio de investigación observacional descriptivo transversal, con uso de muestras biológicas humanas, de acuerdo a lo indicado, se desarrollará en los Centros Especializados de la Cruz Roja Ecuatoriana en la ciudad de Quito.

De acuerdo a lo señalado en el presente estudio, el financiamiento será cubierto en su totalidad por la investigadora principal, Daniela Bohórquez Beltrán.

Se aclara que la Dirección Nacional de Inteligencia de la Salud en base a sus competencias, aprueba investigaciones en salud tomando en cuenta aspectos éticos, metodológicos y jurídicos, sin embargo, **NO** está en sus competencias **NI** alcance, el otorgar autorización sobre el uso de recursos humanos, materiales y/o financieros de los establecimientos del MSP para la ejecución de una investigación.

Dirección: Av. Quitumbe Ñan y Amaru Ñan. Código Postal: 170146 / Quito Ecuador
Teléfono: 593-2-3814-400 - www.salud.gob.ec



El presente proyecto NO contempla el almacenamiento de las muestras biológicas humanas, ni material biológico obtenido en el mismo, para futuras investigaciones. Por lo tanto, las muestras biológicas y el material biológico obtenido, deberá ser destruido/eliminado una vez que culminen con los análisis referentes a la presente investigación.

El presente estudio NO contempla la importación o exportación de muestras biológicas humanas obtenidas en la presente investigación.

Las muestras obtenidas en la presente investigación NO podrán ser cedidas y peor vendidas a otras instituciones y/o personas ajenas a las que se estipulen en la presente investigación, ni tampoco se le realizarán estudios genéticos

Le recordamos que, una vez finalizada la investigación, es responsabilidad de la investigadora principal, enviar a esta Dirección y al Programa Nacional de Sangre del Ministerio de Salud Pública, los resultados de la misma; así como, las publicaciones que se realicen como producto de este estudio.

En caso de que el presente protocolo necesite modificaciones, será necesario que estas sean presentadas para evaluación tanto al Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos que aprobó el estudio, como a la Dirección Nacional de Inteligencia de la Salud del Ministerio de Salud Pública, previo a su ejecución.

La Dirección Nacional de Inteligencia de la Salud, evalúo para su aprobación el presente proyecto en base a una revisión de calidad metodológica y ética de los estudios, en cumplimiento de una de sus atribuciones estatutarias, tratándose de una investigación observacional que utiliza muestras biológicas humanas con la finalidad de precautelar la seguridad de los participantes. Sin embargo, el contenido, la autoría y la responsabilidad sobre los resultados del estudio corresponden al Patrocinador del estudio y a la Investigadora Principal, exonerando al Ministerio de Salud Pública de cualquier acción legal que se derive por esta causa.

Cabe mencionar que, si bien los resultados podrían contribuir a la salud pública, éstos no son de carácter vinculante para esta Cartera de Estado.

Con sentimientos de distinguida consideración.

Atentamente,

Med. David Gerardo Armas Ruiz
DIRECTOR NACIONAL DE INTELIGENCIA DE LA SALUD

Referencias:

- MSP-DNSG-2020-14601-E

Anexos:

- mspcuri000358-2_respuesta_observaciones.pdf
- von_will_adol_2020_0409_v_5.0[14577]_sellado[14814]_compressed.pdf
- of_83_aprobación_evaluación_de_estudio_observacional_von_will_v_5.0[14786].pdf
- oficio0892417001605061631.pdf
-
- Ón-de-investigaciones-observacionales-en-salud-que-usan-muestras-biológicas-humanas-v1.6-22-42.pdf
-
- nes-observacionales-en-salud-que-usan-muestras-biológicas-humanas-v1_6-22-420221115001608128842.pdf
- anexo_2_-_v2.0_-formulario-1-21.pdf
- informe_mspcuri000358-3.pdf

Copia:

Señor
Camilo Molina
Director de Investigación
UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EQUINOCCIAL

Señor Magíster
Galo Esteban Franco Saltos
Coordinador del Programa Nacional de Sangre

Señora Magíster
Miriam del Rocío Obando Rodríguez
Analista

Señora Ingeniera
Gianina Lizeth Suárez Rodríguez
Especialista de Información y Asesoramiento Toxicológico 1

Señor Ingeniero
Mauricio Estuardo Villarroel Utreras
Especialista de Investigación y Análisis 1

Señora Técnica
Mayra Paola Cueva Rojas
Asistente Administrativa 1

**SE INVITA A PARTICIPAR A TODAS LAS
JÓVENES DE 10 A 19 AÑOS DE EDAD QUE
PRESENTEN SANGRADO
MENSTRUAL ABUNDANTE AL ESTUDIO**

**" Determinación de la Enfermedad de von
Willebrand en adolescentes con hipermenorrea que
acudan al Centro Médico Especializado de la Cruz
Roja Ecuatoriana, 2019"**



FECHA: -----

HORA: -----

LUGAR: -----

Para más información:

Marcela Mardones: 0998552172 -

mmardones382@puce.edu.ec

Daniela Bohórquez: 0969062657-

dbohorquez845@puce.edu.ec

ANEXO 5: FORMATO DE CONSENTIMIENTO Y ASENTIMIENTO INFORMADO

CONSENTIMIENTO INFORMADO

PARTE I: Información

Título: Determinación de la Enfermedad de von Willebrand en adolescentes con hipermenorrea en los Centros Médicos Especializados de la Cruz Roja Ecuatoriana en la ciudad de Quito 2020.

Investigadora principal y patrocinador: Daniela Carolina Bohórquez Beltrán – encargada del proceso de firma del documento.

Nombre del establecimiento donde se realizará la investigación: Pontificia Universidad Católica del Ecuador- Servicio de Hematología Centros Médicos Especializados de la Cruz Roja Ecuatoriana.

Nombre del Comité Ética de Investigación en Seres Humanos que evaluó el estudio: CEISH de la Universidad UTE.

Introducción: Yo, Daniela Carolina Bohórquez Beltrán, estoy investigando sobre la enfermedad de von Willebrand (EvW) en mujeres de 10 a 19 años que presentan hipermenorrea de causa desconocida. Le proporcionaré información detallada sobre la investigación y pido su participación voluntaria. Para ello las adolescentes que puedan participar serán aquellas que cumplan con los siguientes criterios:

- Mujeres entre 10-19 años de edad que presentan hipermenorrea determinada por un puntaje de más de 80 en el pictograma.
- Mujeres atendidas en el Centro Médico Especializado de la Cruz Roja en el primer trimestre del año 2020.
- Mujeres con hipermenorrea sin causa confirmada.
- Mujeres adolescentes con hipermenorrea que libre y voluntariamente deseen participar en el estudio y firmen el consentimiento/asentimiento informado.

Y las adolescentes que no puedan participar serán aquellas que cumplan con los siguientes criterios:

- Mujeres embarazadas con antecedentes de hipermenorrea.
- Adolescentes con tratamiento hormonal (anticonceptivos con estrógenos).
- Pacientes que hayan realizado actividad física 24 horas previas a la toma de muestra sanguínea
- Mujeres que se encuentren con administración de antiagregantes, anticoagulantes, antifibrinolíticos y anticonceptivos.
- Pacientes que no firmen el documento de consentimiento informado.
- Pacientes cuyos representantes no firmen el documento de consentimiento/asentimiento informado.

Propósito: El propósito principal de este estudio es ofrecerle a usted y a su médico ginecólogo tratante, información acerca de la falta de una proteína en su sangre que evita que se forme un buen coágulo, lo que podría ocasionar sangrados abundantes durante su menstruación.

Tipo de intervención de investigación: Se le solicitará que nos permita realizar un pinchazo en el antebrazo para obtener una muestra de sangre en dos tubos pequeños; la cantidad corresponde aproximadamente a dos cucharadas soperas en cada tubo. La sangre obtenida solo será utilizada para los análisis propuestos para este estudio, será almacenada en los laboratorios de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a una temperatura de -80°C por un lapso de 4 meses el propósito de almacenarlas es por la disponibilidad del laboratorio para procesarlas y para corroborar en caso de tener resultados incongruentes, una vez concluido el estudio se entregarán los informes adecuados al médico tratante para así las pacientes sean convocadas a una cita médica con el mismo en caso de encontrar alteraciones en el informe de resultados además la investigadora principal será la encargada de eliminar bajo parámetros de bioseguridad todas las muestras de sangre obtenidas.

Participación voluntaria: La participación suya, de su hija o representada en la investigación es absolutamente voluntaria, usted puede participar o no. Puede negarse a participar y no será afectada de ninguna manera, no existirá ninguna sanción ni perderá los beneficios en el Centro Médico donde usted asiste.

Procedimientos y protocolo: Una vez que la participante/representante legal acepte participar en el estudio, realizaré un cuestionario con preguntas relacionadas a los sangrados que usted presenta, si cumple los criterios requeridos para el estudio procederé a tomar una muestra de sangre, desinfectaré y eliminaré bacterias de tu brazo con alcohol luego, seleccionaré una vena de su brazo la cual pincharé con una aguja y recogeré la muestra de sangre en tubos nuevos, sin ocasionarle mayor daño, una vez que finalice de tomar la muestra colocaré un curita. Una vez que tenemos su muestra de sangre iremos al laboratorio para obtener los resultados por medio de un equipo que nos indicará valores exactos de las proteínas que iremos a estudiar en tu sangre. Cabe recalcar que la muestra de sangre servirá única y exclusivamente para el estudio que se menciona (las muestras no serán exportadas ni mucho menos utilizadas en otro estudio); Las muestras de sangre extraídas no serán utilizadas para fines comerciales.

Duración: Se realizará una toma de muestra sanguínea en un día específico con una duración aproximada de 5 minutos que dura el procedimiento y 5 minutos para que usted responda el cuestionario. La investigación tiene una duración de cuatro meses.

Almacenamiento y custodia: Las muestras sanguíneas obtenidas serán procesadas en las instalaciones de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Para su transporte serán custodiadas por la investigadora principal la Srta. Daniela Bohórquez y dentro de las instalaciones de la PUCE serán custodiadas por la Mtr. Marcela Mardones directora del proyecto. Estas muestras, serán almacenadas a bajas temperaturas con el fin de no alterar la muestra y obtener acertados resultados.

Riesgo- beneficio: no existen riesgos potenciales que le afecten. Luego de la toma de muestra y pinchazo realizado se considera como riesgo mínimo el cual, puede que no se detenga la salida de sangre o que se forme un ligero morado en el sitio del pinchazo, ante esto se le solicitará realizar presión en el sitio del pinchazo, con ayuda de un algodón, por cinco minutos. Este será el único riesgo que presente con un beneficio individual de lograr un tratamiento adecuado en la adolescente y un beneficio colectivo de seguir promoviendo la salud en las adolescentes como usted o su representada.

Molestias: La participante puede sentir un ligero dolor al momento de introducir o retirar la aguja en el sitio del pinchazo.

Beneficios: Las pruebas de laboratorio son gratuitas y no recibirá ningún tipo de compensación por su participación. Conocerá acerca de la deficiencia de la proteína llamada Factor de von Willebrand: los resultados de las pruebas realizadas durante el estudio serán entregados a su médico tratante para ayudar a conocer la causa de los sangrados y ampliar las opciones de tratamiento necesarias al presentar la enfermedad.

Confidencialidad: La información obtenida del estudio se mantendrá de manera confidencial, por lo que se utilizará un código exclusivo para cada participante y no sus nombres y apellidos. La información será resguardada por la investigadora y directora del estudio, la muestra de sangre obtenida será utilizada únicamente para los análisis del estudio y se identificará con el código asignado.

Compartiendo los resultados: Al final del estudio, el informe de resultados de sus exámenes de laboratorio realizados en su muestra sanguínea será entregado en formato impreso y en sobre cerrado al médico tratante del Centro Médico Cruz Vital al que usted asiste.

Derecho a negarse o retirarse: Si usted o sus padres o representantes legales deciden libre y voluntariamente dejar de participar en este estudio una vez iniciado, es libre de hacerlo en cualquier momento sin necesidad de explicación alguna, las muestras de sangre y datos obtenidos serán inmediatamente eliminados y no podrán ser utilizados para ningún fin.

A quien contactar: Si usted posee preguntas o desea conocer el estado de sus resultados puede comunicarse con las siguientes personas a cargo del estudio de investigación: Daniela Carolina Bohórquez Beltrán: 0969062657 (dbohorquez845@puce.edu.ec); Msc. Marcela Alexandra Mardones Montanares: 0998552172 (mmardones382@puce.edu.ec).

Esta propuesta ha sido revisada y aprobada por el Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos de la Universidad UTE cuya tarea es asegurarse de que se proteja de daños a los participantes en la investigación. Si usted desea averiguar más sobre este comité, contáctese con el presidente del Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos de la Universidad UTE, Mtr. Camilo Molina, Calle Rumipamba s/n entre Bourgeois y Atahualpa, Quito, 02-2990800 Ext. 2574.

PARTE II: Firma del Consentimiento Informado para participantes, tutores o representantes legales.

Yo _____, participante/representante legal, declaro que he leído la información proporcionada y estoy al tanto del proyecto titulado Determinación de la Enfermedad congénita de von Willebrand en adolescentes con hipermenorrea en los Centros Médicos Especializados de la Cruz Roja Ecuatoriana, 2020.

Soy consciente como participante/representante legal de los siguientes aspectos:

- Comprendido los riesgos y beneficios de participar y he tenido la oportunidad de aclarar mis dudas sobre la investigación y se me ha contestado satisfactoriamente todas y cada una de las preguntas que he realizado.
- La investigación proporcionará información acerca de la cantidad de Factor de Von Willebrand en mi sangre o la de mi representada para brindar un tratamiento adecuado.
- Participante realizará una encuesta con preguntas las cuales serán contestadas en base a los sangrados anormales durante su periodo menstrual. Después le realizarán una punción en el brazo para la extracción de una muestra sanguínea.
- El tiempo que tomará para responder el cuestionario es de 10 minutos y la toma de muestra de sangre durará unos 5 minutos.
- Mi participación o la de mi representada es voluntaria y podrá retirarse del estudio en cualquier momento.
- La información mía o de mi representada no serán revelados a otras personas ajenas al proyecto.
- El beneficio que recibo o que recibe mi representada es conocer sobre la disminución o deficiencia del Factor de Von Willebrand (proteína de coagulación) en su sangre.
- Nos informarán sobre los resultados del examen de sangre al finalizar el proyecto en el consultorio médico.
- El procedimiento de extracción de sangre tiene riesgos y molestias mínimas para mí o mi representada.
- El examen no tiene costo, tampoco incentivos o recompensas económicas o materiales para mí o mi representada y/o para mí.

Por lo tanto, estoy de acuerdo y autorizo en participar en la investigación, consciente de todos los derechos que por ley corresponden:

Nombre del participante _____ CI. _____

Firma del participante _____

Fecha _____ Día/Mes/Año

Nombres y apellidos del representante del participante (en caso de ser menores de edad) _____ CI. _____ Firma _____

Fecha _____ Día/Mes/Año

Código asignado _____

Nombres y apellidos del representante del testigo (en caso de no estar en la capacidad de leer el documento) _____ CI. _____ Firma _____

Fecha _____ Día/Mes/Año

- NO deseo participar en el estudio
 NO deseo seguir participando en el estudio

Al tomar esta decisión yo/mi representada conscientes de los derechos que por ley me corresponden:

Nombre del participante/representante legal _____ CI. _____

Firma del participante/representante legal _____

Fecha _____ Día/Mes/Año

Nombre del Investigador _____ CI. _____

Firma del Investigador _____

Fecha _____ Día/Mes/Año

°Ha sido proporcionada al participante una copia de este documento de Consentimiento Informado ____ (Iniciales del Investigador).

ASENTIMIENTO INFORMADO

PARTE I: Información

Título de la investigación: Determinación de la Enfermedad congénita de von Willebrand en adolescentes con hipermenorrea en los Centros Médicos Especializados de la Cruz Roja Ecuatoriana, 2020.

Instituciones participantes: Pontificia Universidad Católica del Ecuador y Centro Médico Especializado Cruz Vital.

Presentación: Soy Daniela Carolina Bohórquez Beltrán y a continuación te pido leas la siguiente información que te ayudará a entender un poco acerca de por qué has sido elegida para formar parte de este estudio.

¿Cuál es el propósito del estudio en el que participarás? A la investigadora le interesaría conocer más sobre la Enfermedad de von Willebrand asociada al abundante flujo menstrual en adolescentes como tú que acuden a un centro de salud, a partir de una muestra de sangre.

¿Qué vamos a realizar? Si aceptas participar, te voy a pedir que me dejes tomar una muestra de sangre para analizar en qué cantidad se encuentra la proteína que permite que se forme un coágulo, una vez que obtenga tu muestra de sangre se realizarán los exámenes en el laboratorio. La sangre obtenida solo será utilizada para los análisis propuestos para este estudio, será almacenada en los laboratorios de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a una temperatura muy baja de -80°C durante 6 meses. El propósito de almacenar tus muestras de sangre es por la disponibilidad del laboratorio para procesarlas y para corroborar en caso de tener resultados incongruentes, una vez concluido el estudio se entregarán los informes adecuados a cada paciente y se eliminarán todas las muestras de sangre obtenidas.

¿Cuánto tiempo estarás con nosotros? Aproximadamente 15 minutos en lo que llenamos un cuestionario y tomamos la muestra de sangre.

¿Cómo puedes participar? Para ser parte de este estudio debes estar de acuerdo con las actividades que vamos a realizar y firmar el consentimiento/asentimiento informado de forma libre y voluntaria que tendrán beneficios para ti.

¿Qué riesgos puedo experimentar? El único riesgo mínimo que puedas experimentar será el de un doble pinchazo para la toma de muestra en el caso de que la primera vez que tomemos la muestra no sea suficiente y en algunos casos este pueda hacer morado en tu piel, sin poner en riesgo tu vida.

¿Qué beneficios tendrás? Una vez que obtengamos los resultados y sean enviados al médico, el mismo te brindará el tratamiento adecuado si fuera necesario siendo un beneficio individual de lograr un tratamiento adecuado en ti y un beneficio colectivo de seguir promoviendo la salud en las adolescentes como tú.

¿Qué sentirás durante el proceso? Durante la toma de muestra sentirás un ligero pinchazo con una pequeña molestia que durará muy poco tiempo, se te extraerán 2 tubitos con aproximadamente unas cuatro cucharadas de sangre en total, al terminar el proceso se retirará la aguja, te colocaremos un algodón seco y te pediremos hacer presión por unos minutos sobre el sitio del pinchazo para que deje de salir sangre y de ser necesario colocaremos un curita, que puedes retirarte en unos cinco minutos.

¿Recibirás algo por tu participación? No recibirás ningún incentivo monetario ni material después de la participación en el estudio. Tu muestra de sangre no será utilizada para ningún fin comercial.

¿Qué pasa si deseas retirarte? Si deseas retirarte del estudio en cualquier momento, puedes hacerlo sin necesidad de dar alguna explicación.

¿Qué haremos con tus datos? Analizaremos los datos que nos proporcionen en el cuestionario que realizarás en conjunto con los resultados que obtengamos del estudio de tu muestra de sangre, con el fin de darte más información y que tú médico tratante se apoye en estos datos para el diagnóstico y tratamiento.

¿Con quién me puedo comunicar? Si tienes preguntas o deseas conocer el estado de tus resultados puede comunicarse con las siguientes personas a cargo del estudio de investigación: Daniela Carolina Bohórquez Beltrán: 0969062657 (dbohorquez845@puce.edu.ec); Msc. Marcela Alexandra Mardones Montanares: 0998552172 (mmardones382@puce.edu.ec). Esta propuesta ha sido revisada y aprobada por el Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos de la Universidad UTE cuya tarea es asegurarse de que se proteja de daños a los participantes en la investigación. Si usted desea averiguar más sobre este comité, contáctese con el presidente del Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos de la Universidad UTE, Mtr. Camilo Molina, Calle Rumipamba s/n entre Bourgeois y Atahualpa, Quito, 02-2990800 Ext. 2574.

Antes de tomar la decisión responderemos a cualquier pregunta que tengas, si decides participar puedes hacerlas en cualquier momento del proyecto. Si decides participar por favor escribe tu nombre a continuación:

¿DESEAS PARTICIPAR EN EL PROYECTO?: SI NO

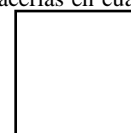
Nombres y Apellidos (niña) _____ Fecha _____

Firma del estudiante (niña) _____ y/o huella.

Cédula: _____ Código asignado _____

Nombre de la persona que obtiene el asentimiento _____

Fecha: _____ Cédula _____



huella dactilar

ANEXO 6: CUESTIONARIO APLICADO A LAS PACIENTES

CUESTIONARIO PARA PACIENTES CON POSIBLES COAGULOPATIAS
(Tomado de Federación Mundial de Hemofilia y Sociedad Internacional de Hematología-y del proyecto “Determinación de EvW en 8 provincias del Ecuador, 2019-2020”)

CÓDIGO:

FECHA:

1.- ¿Ha tenido alguna vez sangrados por la nariz sin causa?

A.-SI

B.-NO

2.- ¿Cuánto tiempo ha durado el sangrado por la nariz?

A.- menos de 1 minuto

B.- De 1 a 10 minutos

C.- Más de 10 minutos

3.- ¿Ha tenido la presencia de moretones sin causa?

A.-SI

B.-NO

4.- ¿Qué tamaño ha tenido los moretones en la piel?

A.-Menos de 1cm

B.- Más de 1 cm

C.- Más grande que la palma de la mano

5.- ¿Ha tenido alguna vez sangrados prolongados por heridas pequeñas?

A.-SI

B.-NO

6.- ¿La duración del sangrado por heridas pequeñas ha sido?

A.- 1 a 10 minutos

B.- Más de 10 minutos

7.-¿Ha presenciado sangre en orina?

A.- SI

B.- No

8.- ¿Ha presenciado sangre en heces?

A.- Si

B.- No

9.- ¿Ha tenido alguna vez dolor e hinchazón en músculos o articulaciones?

A.- Si

B.- No

10.- ¿A qué edad empezaron sus síntomas de sangrados sin causa?

A.- Antes de 1 año de edad

B.- De 1 a 5 años de edad

C.- De 6 a 12 años de edad

D.- De 13 a 17 años de edad

11.- ¿Cuántas veces por año ha tenido sangrados que necesiten tratamiento?

A.- 1 al año

B.- 1 a 5 cada 6 meses

- C.-1 a 3 al mes
- D.- 1 cada semana

12.- ¿Qué tipo de tratamiento ha necesitado por los sangrados?

- A.-Solo consulta
- B.- Medicación a la vena Cuál
.....
- C.- Transfusiones de plasma
- D.- Transfusiones de plaquetas
- E.- Transfusión de glóbulos rojos
- F.- Concentrados de factor

13.- ¿Cuántos días dura su sangrado menstrual, desde el inicio al final?

- A.-. menos de 7 días
- B.- más de 7 días

14.- ¿Qué producto de cuidado es de su preferencia?

- A.- Toallas higiénicas
- B.- Tampones

15.- ¿Aproximadamente cuantos cambios de toalla o tampón realiza usted al día?

- A.- 2 cambios /día
- B.- 3 cambios/día
- C.- 4 cambios /día
- D.- + 4 cambios - ESPECIFIQUE _____

16.- ¿Durante su periodo, ha presenciado coágulos?

- A.- SI
- B.- NO

17.- ¿Ha tenido alguna vez hemorragia vaginal fuera del periodo menstrual?

- A. Si
- B.- No

18.- ¿Necesita cambio de toalla o tampón en menos de 2 horas por la hemorragia?

- A.- Si
- B.- No

19.- ¿Tuvo hemorragia por más de 7 días?

- A.- Si
- B.- No

20.- ¿Tuvo que interrumpir sus actividades normales por el sangrado?

- A.- Si
- B.- No

21.- ¿Requirió atención médica y tratamiento por la hemorragia?

- A.- Si
- B.- No

22.- ¿Qué tiempo duraron las hemorragias?

- A.- menos de 12 meses
- B.- Más de 12 meses

En la siguiente tabla de severidad de los signos, coloque una X donde corresponda.

SEVERIDAD DE SIGNOS PRESENTADOS			
SIGNO	AUSENCIA	MODERADA	RECURRENTE
SANGRADO DE NARIZ			
HEMATOMAS			
SANGRADO DE ENCÍAS			
SIGNO	PRODUCTO TAMPÓN	PRODUCTO TOALLA	
SANGRADO ABUNDANTE MENSTRUAL			
			
			
SIGNO	CORTA DURACIÓN	LARGA DURACIÓN	
SANGRADO EN LASTIMADO			
SIGNO	AUSENCIA	SANGRADO EXCESIVO	NO APLICA
SANGRADO ABUNDANTE DESPUÉS DE CIRUGÍAS			

ANEXO 7: PONDERACIÓN DE PREGUNTAS RELEVANTES DEL CUESTIONARIO

No.	Categoría	%	Número Pregunta
1	Sangrados por la Nariz	5	1
2	Presencia de Moretones	5	3
3	Presencia Coágulos en período Menstrual	15	16
4	Fuerte Sangrado Vaginal fuera periodo menstrual	15	17
5	Sangrando Abundante Menstrual	20	26
6	Sangrado abundante después de cirugías	20	29
7	Sangrado Menstrual mayor a 7 día	20	13
	TOTAL	100	

Elaborado por: Daniela Bohórquez B.

ANEXO 8: CONDICIONES PREANALÍTICAS PREVIO A TOMA DE MUESTRA

PREPARACIÓN PARA LA PACIENTE QUE SE SOMETE A PRUEBAS DE COAGULACIÓN

1. Evitar dietas ricas en grasa entre 8 y 12 horas previo a la toma de muestra sanguínea.
2. No realizar actividad física 24 horas previo a la toma de muestra.
3. Evitar el consumo de tabaco 2 horas antes de la toma de muestra.
4. No encontrarse en periodo menstrual.
5. Evitar la administración de anticonceptivos 1 mes previo a la toma de muestra (programación con ginecólogo).
6. Asistir a la toma de muestra entre 7 am – 9 am para evitar ciclos circadianos.

SELECCIÓN DEL ÁREA DE PUNCIÓN.

- Verificar que el sitio elegido para punción no tenga presencia de heridas, fístulas o cicatrices.
- Colocar el brazo del paciente en posición horizontal de tal modo que el paciente se encuentre cómodo.
- Preparar el material para venopunción (cápsula vacutainer, aguja 21G o 23G en el caso de venas de difícil acceso, tubos de plástico con anticoagulante de citrato de sodio y EDTA capacidad para 5mL c/u) y colocar torniquete a 10cm de separación del lugar de punción.
- Escoger la vena más apropiada para venopunción en el brazo, caso contrario escoger otro lugar para venopunción, las venas más utilizadas en el procedimiento son: vena cubital, cefálica y basilica (figura 1).
- Palpar la vena escogida para toma de muestra.

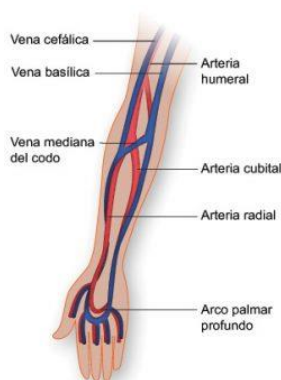


FIGURA 5. VASOS SANGUÍNEOS DEL BRAZO.

(THI, 2017)

ASEPSIA DEL LUGAR DE PUNCIÓN.

- Realizar desinfección del área de punción con alcohol etílico al 70% o alcohol isopropílico con torundas de algodón de adentro hacia afuera en movimientos circulares.
- No volver a manipular el área de punción luego de asepsia.

TOMA DE MUESTRA.

- Puncionar la vena escogida para la toma de muestra.
- Extraer muestra con los tubos en orden en este caso se toma la muestra primero con el tubo de citrato de sodio, continuando con el tubo que contiene anticoagulante EDTA (Etilendiaminotetracético).
- Finalizada la toma de la muestra en ambos tubos retirar el torniquete, colocar la torunda y sacar del área de punción la aguja utilizada.
- Eliminar el material cortopunzante (agujas) en el guardián o lugar designado para eliminación de objetos cortopunzantes.
- Rotular las muestras con el código designado al paciente.

CITA BIBLIOGRÁFICA

-(THI, 2017)

-(Dickinson, B, 2012)

ANEXO 10: LISTA DE COTEJO CONDICIÓN DE MUESTRA.

	SI	NO
1.- HORA DE TOMA DE MUESTRA. _____		
2.- MUESTRA CUMPLE CON LLENADO COMPLETO DEL TUBO.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3.- MUESTRA ES ROTULADA CON EL CÓDIGO CORRECTO DEL PACIENTE.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4.- MUESTRA HOMOGENIZADA CORRECTAMENTE Y NO COAGULADA.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.- MUESTRA ESPUMOSA (EXCESO DE AGITACIÓN)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6.- AGUJAS EMPLEADA PARA LA EXTRACCIÓN _____		
7.- LUGAR DE PUNCIÓN <input type="checkbox"/> BRAZO DERECHO <input type="checkbox"/> BRAZO IZQUIERDO <input type="checkbox"/>		
OTRO : _____		
8.- NÚMERO DE PUNCIONES <input type="checkbox"/> UNA <input type="checkbox"/> DOS <input type="checkbox"/> >DOS: _____ -		

CHECK LIST CONDICIONES DE PLASMA (DESPUÉS DE CENTRIFUGACIÓN)

	SI	NO	+ (Cruces)
6.- MUESTRA HEMOLIZADA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
7.- MUESTRA LIPÉMICA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
8.- MUESTRA ICTÉRICA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____

Art. 4 el sistema de embalaje debe incluir 3 empaques.

- 1. Empaque o envase primario: aquel recipiente impermeable que contiene la muestra para evitar riesgo de derrame, la tapa del envase debe asegurar estanqueidad y hermeticidad del mismo; adicionalmente puede sellarse también con parafilm.**
- 2. Empaque o envase secundario: aquel recipiente, impermeable y resistente a cualquier tipo de rotura o desgarro.**
- 3. Empaque o envase terciario: aquel contenedor rígido con capacidad de aislamiento térmico que alberga al envase secundario así como la documentación técnica de la muestra, brinda protección a daños físicos mientras el bulto se encuentra en tránsito.**

CITA BIBLIOGRÁFICA

(MSP, 2017)

ANEXO 12: PROTOCOLO DE MANEJO DE MUESTRAS DE PLASMA Y SANGRE TOTAL

MUESTRA SANGRE TOTAL - EDTA

La prolongación excesiva del contacto entre la sangre y el anticoagulante altera la morfología de los elementos celulares sanguíneos, por lo que es muy recomendable realizar al menos dos frotis sanguíneos, después de la extracción de la muestra, para dejarlos secar al aire y ser remitidos junto con la muestra.

Las muestras de sangre para estudios hematológicos deben ser analizadas tan pronto como sea posible tras su recolección. Si se prevé el retraso en su análisis se deben refrigerar a 4 ° C durante un período máximo de 24 h. Las muestras sanguíneas para análisis hematológico no deben ser nunca congeladas, ni tampoco situadas en contacto directo con los acumuladores térmicos empleados para el envío en refrigeración.

MUESTRAS DE PLASMA CITRATADO

Las muestras de sangre para realizar TP, TTPA serán centrifugadas para obtener un plasma pobre en plaquetas, la velocidad recomendada es 1500 g, durante 15 minutos y a temperatura ambiente (18-24°C). En el caso de solicitar sólo TTPA se recomienda centrifugar a 4-8°C. El planteamiento matemático para resolver la equivalencia entre fuerza centrífuga relativa (fcr) y revoluciones por minuto (rpm) es: $fcr = 1,118 \times 10^{-5} \times \text{radio (cm)} \times \text{rpm}^2$.

- La muestra de plasma para el TP es estable en el tubo hasta por 24 horas desde obtenida la muestra, si se mantiene a temperatura ambiente sin centrifugar o centrifugada sin destapar. El mismo periodo de estabilidad a temperatura ambiente presenta la muestra de plasma que ha sido centrifugada y separada del contenido celular.

- En el caso del TTPA el plasma es estable en el tubo hasta por 4 horas (desde obtenida la muestra) a temperatura ambiente, sin centrifugar o centrifugado sin destapar. El plasma para TTPA centrifugado y separado del contenido celular es estable por 4 horas a 4-8°C o a temperatura ambiente. Para el monitoreo a través del TTPA de pacientes tratados con heparina de alto peso molecular las muestras deben ser centrifugadas antes de una hora de colectadas (4).

- Las muestras para la determinación de otros factores de coagulación (por ejemplo, proteína C, factor V y factor VIII) presentan estabilidad variable, por lo que se recomienda todas las consideraciones indicadas para la prueba del TTPA (4).

- Si las pruebas de TP y TTPA no se pueden realizar en los rangos de tiempo señalados, el plasma pobre en plaquetas debe ser removido de la fracción celular y congelar a -20 ° C o -70 ° C, lo que permitirá obtener resultados representativos para estas pruebas hasta por 2 semanas y 12 meses respectivamente

Empaques para el transporte:

1. Recipiente primario.
2. Se trata del recipiente primario a prueba de filtraciones y estanco que contiene la muestra. Este recipiente se debe envolver en material absorbente con capacidad para absorber todo el fluido en caso de rotura o fuga.
3. Recipiente secundario.
4. Recipiente resistente, estanco, a prueba de filtraciones que encierra y protege el recipiente primario. Se pueden colocar varios recipientes primarios envueltos en un recipiente secundario, pero se deberá usar suficiente material absorbente para absorber todo el fluido en caso de rotura o fuga.
5. Recipiente exterior.
6. Los recipientes secundarios se colocan en envases exteriores de transporte provistos con un material amortiguador adecuado. Los recipientes exteriores protegen el contenido de los elementos exteriores, como daños físicos, mientras el bulto se encuentra en tránsito. Ninguna de las caras del recipiente exterior tendrá dimensiones inferiores a 10 × 10 cm. Cada envase preparado para su transporte deberá estar correctamente marcado y etiquetado e ir acompañado de los documentos de envío pertinentes.
7. La temperatura será registrada cada vez que el contenedor sea abierto por cualquier motivo.

CITA BIBLIOGRÁFICA
(Retamales, E, 2014)

ANEXO 13: PROTOCOLO DE ELIMINACIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS - Resumen

1. Verter las muestras líquidas (plasma y suero) por el sumidero con la llave abierta
2. Poner los coágulos en un recipiente con una solución de hipoclorito de sodio (al 10%)
3. Dejar actuar por 30 minutos
4. Escurrir la solución de hipoclorito en el sumidero y dejar correr el agua
5. Colocar los coágulos en un recipiente plástico
6. Auto clavar por 30 minutos a 121 grados centígrados
7. Poner en una funda roja y cubrir con una caja de cartón para su envío a la entidad responsable de desechos infecciosos.

CITA BIBLIOGRÁFICAS

(Ministerio de Salud Pública del Ecuador, 2016)

ANEXO 14: PROTOCOLO DE ELIMINACIÓN DE DESECHOS SÓLIDOS CONTAMINADOS CON FLUIDOS BIOLÓGICOS – BASADO EN MSP.

TOMADO DEL CAPÍTULO 4 – GENERACIÓN Y SEPARACIÓN.

1. Atención ambulatoria debe generar de 250 g a 350 g por día y por paciente.
2. El investigador o personal debe realizar la separación de los desechos.
3. Los desechos deben ser separados en el mismo instante y lugar de generación.
4. Objetos corto punzantes serán colocados en recipientes desechables que no sufran de perforaciones o fugas.
5. Desechos líquidos y semilíquidos serán colocados en recipientes plásticos resistentes y herméticos para ser tratados posteriormente.
6. Desechos infecciosos serán colocados en recipientes de color rojo con fundas del mismo color.
7. Desechos especiales serán colocados en cajas de cartón

TOMADO DEL CAPÍTULO 5- ALMACENAMIENTOS Y RECIPIENTES.

1. Los desechos comunes e infecciosos deberán ser colocados en recipientes de plástico rígido y resistente.
2. Las fundas para los desechos deben ser de distintos colores:
 - Negro: comunes
 - Rojo: Infecciosos
 - Gris: Material reciclable
 - Verde: Material orgánico.
3. Las fundas deben tener un espesor y resistencia de 35 micrómetros.
4. El material de las fundas debe ser plásticos biodegradables y opacos para evitar la visibilidad de los desechos.
5. El envase de desechos corto punzantes no debe permitir el ingreso de manos y su capacidad debe ser máximo de 6 litros.
6. Los recipientes deben tener una rotulación adecuada con el tipo de desecho, nombre de la institución, persona responsable y área, fecha.

TOMADO DEL CAPÍTULO 7- TRATAMIENTO DE DESECHOS.

1. El tratamiento de los desechos infecciosos consiste en la inactivación de la carga contaminante bacteriana y/o viral en la fuente generadora.
2. Los métodos de tratamiento de los desechos infecciosos son:
 - a.- **Esterilización (autoclave):** Mediante la combinación de calor y presión proporcionada por el vapor de agua, en un tiempo determinado.
 - b.- **Desinfección química:** Mediante el contacto de los desechos con productos químicos específicos.

CITA BIBLIOGRÁFICA

(Ministerio de Salud Pública, 2016)

ANEXO 15: FORMATO PARA REPORTE DE RESULTADO.

DATOS DEL INFORME			
Nombre de la paciente			
Edad		Código	
Sexo		Tipo de muestra	
Fecha y hora de toma			
Fecha y hora de procesamiento			

Informe de Resultados

EXAMEN REFERENCIA	RESULTADO	UNIDAD	INTERVALO	DE
CONTAJE DE PLAQUETAS /mm ³ Método: Manual		/mm ³	150.000 – 450.000	
CUANTIFICACIÓN DE FVIII Método: Turbidimetría luz dispersa		%	50 – 150 %	
CUANTIFICACIÓN DE AG:Vw Método: Turbidimetría Luz dispersa		%	50 – 150 %	
TTPa Método: Coagulometría		Seg	25 – 35 seg	
Validado: Fecha/Hora Val.				

Observaciones:

ANEXO 16: INSERTOS DE PRUEBAS DE LABORATORIO A REALIZAR

TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ACTIVADO (TTPA)

SIEMENS

CE

Dade® Actin® Reactivo de cefaloplastina
activada

ACTIN

PRINCIPIO

Control de la eficacia de la terapia con heparina no fraccionada, en donde la prolongación del tiempo de coagulación es proporcional al nivel de heparina. La determinación del aPTT es una prueba de chequeo de gran valor clínico, con grandes posibilidades de aplicación para el diagnóstico de alteraciones de la coagulación y para el control de las terapias de pacientes con tendencia a las hemorragias o a la trombosis.

REACTIVOS PROPORCIONADOS

ACTIN REF B4218-1

10 x 2 ml, ACTIN Dade® Actin® Reactivo

ACTIN REF B4218-2

10 x 10 ml, ACTIN Dade® Actin® Reactivo

COMPOSICIÓN

Dade® Actin® Reactivo de cefaloplastina activada: Cefalina (extracto obtenido de cerebro de conejo y deshidratado) en $1,0 \times 10^{-4}$ M de ácido elágico, con tampón, estabilizadores y agentes de conservación.

Materiales adicionales necesarios

Solución de cloruro de calcio (CaCl_2) 0,025 mol/l

1. Plasma control N o Dade® Ci-Trol® nivel 1 como control para el intervalo normal
2. Plasma control P o Dade® Ci-Trol® nivel 2 o Dade® Ci-Trol® nivel 3 como control para el intervalo patológico/terapéutico
3. Dade® Ci-Trol® Heparina control bajo
4. Dade® Ci-Trol® Heparina control alto
5. Para la extracción de sangre, usar citrato sódico (0,11 o 0,13 mol/l o bien al 3,2 o al 3,8%) o un sistema de extracción de sangre existente en el mercado.
6. Agua destilada o desionizada sin agentes de conservación
7. Tubos de plástico
8. Pipetas para la medida exacta de 0,1 ml
9. Analizadores de coagulación

PREPARACIÓN MUESTRA

1. Mezclar nueve partes de una muestra de sangre del paciente recién extraída con una parte de citrato sódico (0,11 o 0,13 mol/l o bien al 3,2 o al 3,8%)
2. Centrifugar las muestras de sangre lo antes posible una vez realizada la extracción durante un mínimo de 15 minutos a $1500 \times g$ y a temperatura ambiente.
3. Separar el plasma con una pipeta de plástico y pasarlo a un tubo de plástico. No conservar en hielo. El plasma no heparinizado debe analizarse en un plazo de cuatro (4) horas a partir de la extracción.
4. El plasma pobre en plaquetas puede congelarse a ≤ -20 °C durante un máximo de (2) semanas en un congelador que no cree escarcha.
5. El plasma congelado debe descongelarse rápidamente a $+37$ °C, mezclarse con cuidado y analizarse de forma inmediata.
6. Las muestras no deben permanecer a $+37$ °C más de 5 minutos.

Prueba manual:

Precalentar el cloruro de calcio a 37°C		
Precalentara 37°C 0,1 mL de Dade Actin Reactivo durante un minuto (mezclar antes de usar)		
Pipetear en tubos de coagulación de la siguiente manera		
	Muestra	Muestra de control
Dade Actin Activated Cephaloplastin Reagent	0,1 mL	0,1 mL
Plasma	0,1 mL	-
Plasma control	-	0,1 mL
Plasma control		
Mezclar bien. Incubar a 37°C durante 3 minutos		
Solución de cloruro de calcio precalentada	0,1 mL	0,1 mL
A la vez que se agrega el CaCl ₂ accionar cronómetro, mezclar bien. Comprobar la coagulación a partir de los 20 segundos.		

DETERMINACIÓN DE FVIII

Utilidad de la prueba

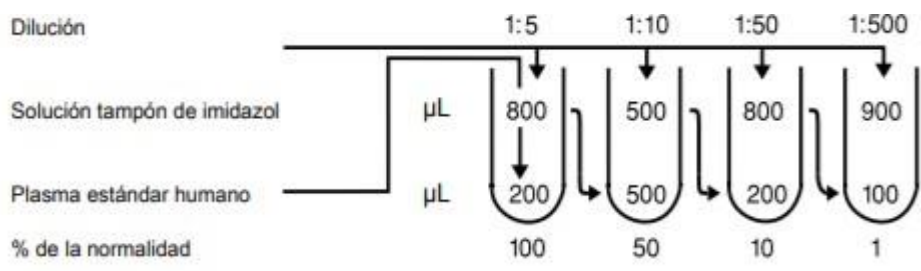
1. Determinar la causa de un TTPa prolongado
2. Diagnóstico de déficit de factor congénito o adquirido
3. Diferenciación entre disproteinemias y trastornos de síntesis de proteínas

PLASMA

4. Mezclar con cuidado 1 parte de anticoagulante de citrato de sodio al 3.2% con 9 partes de sangre venosa evitando la formación de espuma.
5. Centrifugar la muestra a 1500 x g al menos 15 minutos a temperatura ambiente
6. La muestra es estable entre 15 a 25°C por 3 horas y a -20°C por 4 semanas.

CURVA DE REFERENCIA

Utilizar una mezcla de plasma humano de al menos 10 donantes sanos. Si utiliza la solución de tampón de imidazol prepare las soluciones como se muestran en el esquema y determinar los tiempos de coagulación. Debe realizarse una nueva curva en el caso de existir un cambio en el analizador o en el lote de reactivos empleados.



En caso necesario, pueden prepararse diluciones adicionales. Trazar la gráfica sobre papel logarítmico de los tiempos de coagulación encontrados (ordenadas) frente al correspondiente porcentaje de actividad del factor (abscisa). Los tiempos de coagulación son dependientes del principio de medida y por lo tanto del analizador de coagulación utilizado. Por este motivo, cada laboratorio debe establecer su propia curva de referencia.

FLUJO DE TRABAJO

Plasma deficiente	100ul
Muestra diluida	100ul
Reactivos TTPa	100ul
Incubar a 37°C	2 minutos
Solución de cloruro de calcio a 37°C	100ul
Una vez colocado la solución de cloruro de calcio, poner en marcha el cronómetro y determinar el tiempo de coagulación	

CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

El contenido del factor se obtiene leyendo el porcentaje en la curva de referencia. Si el valor nominal dado para el plasma estándar no corresponde al 100% de normalidad sino, al 95% (p. ej.) se debe multiplicar el valor obtenido por 0.95.

Para tiempos de coagulación que correspondan a un valor superior al 100% de normalidad se deben realizar diluciones mayores. En la valoración de estas muestras, el valor en % en la curva de referencia para esta dilución debe ser multiplicado por el factor de corrección, por ejemplo, para una dilución de 1:10 se debe multiplicar por el factor de corrección 2.

CONTROL INTERNO DE CALIDAD

Intervalo normal	Plasma de Control N
Intervalo patológico	Plasma de Control P

Deben medirse dos niveles de control de calidad (intervalo normal y patológico) al iniciar un ciclo de ensayo, con cada calibración, cuando vaya a cambiarse el frasco de reactivo y al menos cada ocho horas en cada día de ensayo. Los controles deben ser procesados como muestras. Si los valores de los controles se encuentran fuera de rango deberán examinarse el reactivo, la curva de calibración y el analizador de coagulación. Los resultados de los pacientes no deberán reportarse hasta identificar y corregir la causa de la desviación.

INTERVALO DE REFERENCIA

Factor VIII: 50 a 150% de normalidad

CONTAJE DE PLAQUETAS – MÉTODO MANUAL – TÉCNICA REESE ECKER

Material requerido

- Sangre venosa extraída sobre EDTA (Evita la agregación de plaquetas y mantiene adecuadamente la morfología de las mismas).

Procedimiento

1. Realizar dilución 1: 100 con reactivo Reese ecker (1000uL de reactivo + 10uL de muestra sanguínea).
2. Colocar dilución en cámara de Neubauer para realizar contaje manual.
3. Preparación de cámara húmeda.
4. Colocar cámara de Neubauer con muestra en cámara húmeda durante 10- 15 minutos.
5. Transcurrido el tiempo, realizar el contaje mediante un microscopio de contraste o microscopio óptico, realizando un recuento de plaquetas dentro del cuadrado central. De los 16 cuadrados medianos que componen el cuadrado central elegiremos 5 al azar. De cada cuadrado mediano elegido leeremos 4 cuadrados pequeños, haciendo una lectura total de 20 cuadrados pequeños.
6. El valor obtenido será multiplicado por 1000.
7. Se relaciona el valor obtenido en base el intervalo de referencia (150.000 – 450.000 /mm³).

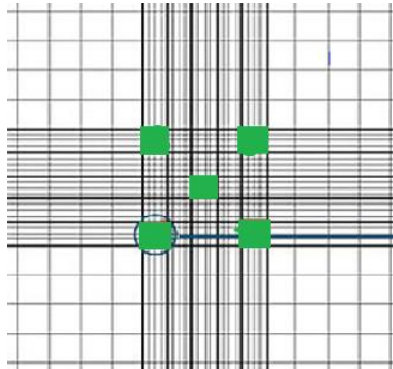


Figura 6. Cámara de Neubauer (se señala los espacios que deben ser contados).

(Lluís, J., & Lluís, J., 2014)

Figura 6. Cámara de Neubauer (se señala los espacios que deben ser contados).

(Lluís, J., & Lluís, J., 2014)

CITA BIBLIOGRÁFICA

(Lluís, J., & Lluís, J., 2014)

RESUMEN DE LA NORMA ISO 8655 – Calibración de pipetas.

La norma caracteriza tanto el error sistemático máximo permitido como los límites máximos de error aleatorio permisibles para un dispositivo en volúmenes específicos que van desde 1-10,000uL.

Metodología

Establece que la metodología principal para la medición de pipetas operadas con pistón y aparatos de medición relacionados es a través del análisis de medición gravimétrica. Se incluyen los requisitos de saldo mínimo en cada volumen de prueba, importante para informar la precisión de la medición con la resolución adecuada. Este estándar también requiere control (no solo monitoreo) de las condiciones de prueba, junto con puntos de datos mínimos para una representación válida del rendimiento del dispositivo y el análisis de medición mediante básculas.

Ambiente

Temperatura - constante [± 0.5 ° C], 15-30 ° C

Humedad relativa - >50%

Flujo de aire - sin corrientes de aire

Estático - 0

Velocidad de evaporación - 0

Vibración - 0

Altitud - nivel de suelo.

CITA BIBLIOGRÁFICA

(ISO, 2002)
