



CORPORACIÓN UNIVERSITARIA
RAFAEL NÚÑEZ

GUÍA DE LABORATORIO DE
HEMATOLOGIA GENERAL

III SEMESTRE

María del Rosario Osorio Dáguer

Bacterióloga Esp. Hematología y Banco de
Sangre

Facultad de Ciencias de la Salud

Programa de Bacteriología



© **Corporación Universitaria Rafael Núñez**
Institución Universitaria | Vigilada Mineducación
2018
Hecho en Colombia

Rector

Miguel Ángel Henríquez López

Vicerrector General

Miguel Henríquez Emiliani

Vicerrectora Académica

Patricia De Moya Carazo

Vicerrector Administrativo y Financiero

Nicolás Arrázola Merlano

Directora Institucional de la Calidad

Rosario López Guerrero

Directora de Investigación

Judith Herrera Hernández

Directora programa de Bacteriología

Rosana de la Torre Barboza

**Director de Biblioteca Miguel Henríquez Castañeda-
Cartagena**

Luis Fernando Rodríguez L.

Revisión técnica disciplinar

Elayne Flórez Julio

Eliana Buelvas Pereira

Revisión y corrección de estilo

Zarina Durango Herazo

Autor

María del Rosario Osorio Dáguer

TABLA DE CONTENIDO

PRESENTACIÓN.....	4
NORMAS GENERALES DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO.....	5
PLAN DE TRABAJO.....	7
MATERIALES PARA TODAS LAS CLASES.....	8
PRÁCTICAS N° 1.OBTENCIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE.....	9
PRÁCTICAS N°2. ANTICOAGULANTES.....	12
PRÁCTICAS N°3. EXTENSIÓN O FROTIS SANGUÍNEO.....	15
PRÁCTICAS N°4. TINCCIONES HEMATOLÓGICAS.....	17
PRÁCTICAS N°5. HEMOGLOBINA.....	20
PRÁCTICAS N°6. HEMATOCRITO O VOLUMEN GLOBULAR.....	22
PRÁCTICAS N°7. VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN GLOBULAR (V.S.G).....	25
PRÁCTICAS N°8. RECUENTO DE GLÓBULOS ROJOS O ERITROCITOS.....	28
PRÁCTICAS N°9. ÍNDICES HEMÁTICOS O CONSTANTES CORPUSCULARES.....	31
PRÁCTICAS N°10. RECUENTO DE GLÓBULOS BLANCOS O LEUCOCITOS.....	34
PRÁCTICAS N°11. RECUENTO DIFERENCIAL O FÓRMULA LEUCOCITARIA	39
PRÁCTICAS N°12. RECUENTO DE PLAQUETAS.....	43
PRÁCTICAS N°13. RETICULOCITOS.....	45
PRÁCTICAS N°14. SICKLEMIA.....	49
PRÁCTICAS N°15. FROTIS DE SANGRE PERIFÉRICA.....	52
BIBLIOGRAFÍA	

PRESENTACIÓN

El presente manual de hematología, está diseñado para introducir al estudiante de bacteriología en los procedimientos manuales en el laboratorio para la realización de exámenes de hematología, en forma sencilla y clara que permitan ofrecer al médico unos datos de laboratorio de gran interés para el diagnóstico y seguimiento de un gran número de enfermedades.

Al conjunto de determinaciones que ofrecen una información sobre la citometría hemática, en relación con el número y morfología, de ella se le denomina hemograma.

Las determinaciones que constituyen el hemograma son: serie blanca, serie roja y serie plaquetaria de forma cualitativa y cuantitativa.

A su vez, proporciona las herramientas necesarias para informar y reconocer las características morfológicas y fisiológicas de las células sanguíneas y la correlación clínica con las otras áreas del saber.

Es importante enfatizar que la interdisciplinariedad es básica para que el estudiante pueda desarrollar todas las habilidades interpretativas y analíticas y los elementos cognitivos y a no desligar ningún área del saber, ya que de esto depende su éxito en el campo laboral.

NORMAS GENERALES DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO

1. Utilizar siempre los elementos de barrera de protección apropiados según las necesidades: bata, gorro, guantes, tapabocas y gafas etc. Nunca circular con ropa de calle y/o cambiarse de ropa dentro del Laboratorio.
2. Siempre respetar las señalizaciones de Bioseguridad.
3. Reportar siempre a su docente los accidentes ocurridos en el Laboratorio.
4. Lávese las manos vigorosamente antes y después de efectuar un procedimiento.
5. Desechar con precaución los elementos cortopunzantes como: agujas, lancetas y otros, para evitar lesiones, depositarlos siempre en el guardián.
6. Si padece lesiones exudativas o dermatitis debe evitar el contacto con los pacientes y con los equipos de trabajo, hasta que estas sanen.
7. Utilice siempre dispositivos de pipeteo mecánico en el manejo de líquidos y reactivos, nunca bucal.
8. Absténgase de comer, beber o fumar en el laboratorio.
9. Es responsabilidad de cada estudiante el manejo del reactivo al que tenga acceso, conozca todos los símbolos de riesgo para el manejo de las sustancias.
10. En caso de derrames neutralice, desinfecte y luego limpie el derrame con un material absorbente.
11. Nunca debe esterilizar material limpio con contaminado.
12. Utilizar adecuadamente los equipos y proporcionarles un mantenimiento conveniente y permanente, si un equipo se contamina con una muestra

biológica, deberá ser descontaminado con hipoclorito de sodio al 7% y luego limpiarlo de acuerdo con las especificaciones del fabricante.

- 13.** En caso de rompimiento de un tubo o derrame en la centrifuga apáguela inmediatamente y espere treinta minutos antes de abrirla para evitar la formación de aerosoles.
- 14.** Al inicio y al final de una práctica de laboratorio o después de salpicaduras con sangre u otros líquidos corporales, las superficies de las mesas deberán ser descontaminadas con una solución de hipoclorito de sodio al 7%.
- 15.** Todo material contaminado deberá ser eliminado en bolsa roja.

PLAN DE TRABAJO

1. Antes de cada práctica, lea los procedimientos que se va a realizar y prepare e investigue el significado de las palabras que no conozca, y los aspectos teóricos correspondientes, y los materiales y/o muestras necesarios para la ejecución de la misma.
2. Marque los tubos y muestras del paciente que va a utilizar, lo mismo que identifique las pruebas a realizar.
3. Anote cuidadosamente sus resultados: el o los exámenes de la práctica, no solo se limitará a la información proporcionada por el manual o el docente sino también de su propia observación, investigación y deducción.
4. Asegúrese que la superficie del mesón esté limpia y seca antes de comenzar la práctica.
5. En la mesa de trabajo solo debe estar el material necesario para la realización de la práctica. Debe estar limpio y ordenado.
6. Asegúrese de marcar adecuadamente las láminas, tubos etc.
7. Practique varias veces el procedimiento y en caso de dudas preguntar a su docente.
8. Anote y/o dibuje todo lo observado y los resultados obtenidos para una mejor realización del informe de laboratorio.
9. Al terminar limpie la zona de trabajo descartando el material que no necesite. Descarte los materiales usados en los sitios destinados para esto. No deje material contaminado en las mesas de trabajo al finalizar la práctica.
10. Siempre utilice todas las normas de bioseguridad.

**MATERIALES PARA TODAS LAS CLASES
INDISPENSABLES EN TODOS LOS LABORATORIOS**

1. Lápiz de Cera o marcador cristalográfico.
2. Colores.
3. Guantes desechables.
4. Mascarilla o tapabocas.
5. Gafas de protección.
6. Toalla pequeña.
7. Muestra solicitada.
8. Portaobjetos.
9. Papel absorbente.
10. Guías de laboratorio previamente estudiadas.
11. Folder. Tema y # de la práctica a desarrollar, objetivos, materiales, procedimiento, resultados (Dibujos), conclusión personal y desarrollo de talleres.
12. Lápiz, borrador, sacapuntas, calculadora.

PRÁCTICA Nº 1: OBTENCIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE

I. INTRODUCCIÓN

Para las técnicas hematológicas es fundamental obtener muestras de sangre adecuadas ateniéndose a una técnica muy precisa.

Una buena asepsia del sitio de la venopunción y la correcta elección del recipiente a necesitar son indispensables para obtener una excelente muestra en los estudios hematológicos.

Se pueden obtener muestras por punción venosa, cutánea o arterial; la más utilizada es la punción venosa por ser el método más fácil y adecuado.

La punción venosa es realizada en venas de fácil acceso, la más utilizada es la vena cefálica media, de pie o de mano

La punción cutánea, puede ser realizada en dedo, lóbulo de la oreja o talón.

La punción arterial es menos utilizada, generalmente realizada por personal experto.

II. OBJETIVOS

Objetivo General:

- Conocer las diferentes formas de recolección de la sangre, que permitan obtener la muestra para los diferentes exámenes.

Objetivo Específico:

- Adquirir destreza en la obtención de muestra venosa y capilar.

III. MÉTODO

Punción capilar y punción venosa.

IV. FUNDAMENTO

Se debe palpar muy bien el antebrazo para elegir la vena ideal y poder obtener la muestra del paciente.

V- REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS

- Alcohol al 70%
- Algodón
- Torniquete
- Jeringas (2.5 cc 0 5.0 cc.)
- Lancetas
- Tubos vacutainer con o sin anticoagulantes
- Tubos con o sin anticoagulante
- Guantes
- Bata de laboratorio
- Gradillas

VI. MUESTRA

Los estudiantes se agrupan en parejas y se realiza la punción venosa.

VII. PROCEDIMIENTO DE PUNCIÓN VENOSA

1. La zona de la venopuntura se limpia con alcohol al 70%
2. Se coloca un torniquete 5 - 7 cm. por encima el lugar de la puntura de manera que pueda quitarse con facilidad. El torniquete no debe estar apretado de tal modo que impida la circulación arterial.

3. El paciente debe abrir y cerrar el puño varias veces y finalmente cerrarlo con fuerza.
4. Se utilizan tubos vacutainer. Si no se dispone de ellos, se lleva hacia atrás el embolo de la jeringa para comprobar la permeabilidad de la aguja, se comprueba que la aguja este fuertemente unida y el embolo se lleva a su posición inicial.
5. El brazo del paciente se sujeta mediante la mano libre del técnico, y este coloca su dedo pulgar izquierdo sobre la vena a unos 4 cms del lugar de la puntura y se aplica una ligera tracción.
6. La jeringa se mantiene entre el dedo pulgar derecho y los tres últimos dedos de la misma mano con el bisel hacia arriba y en línea del curso de la vena, la aguja se inserta 0.5 – 1 rápida y firmemente en la piel y después en la vena. Cuando la aguja ha penetrado en la luz de la vena, se nota una penetración fácil, y la sangre fluye libremente a la jeringa.
7. La cantidad de sangre precisa se extrae ejerciendo una suave tracción del embolo. La formación de espumas y la hemólisis se evitan extrayendo la sangre lentamente.
8. Se libera el torniquete y se extrae la aguja poco a poco; se aplica una curita o algodón en el sitio de la venopunción y se ejerce una leve presión sobre este. Se dice al paciente que ejerza esta presión durante 2- 3 minutos para evitar hemorragias.
9. La aguja se separa de la jeringa y la sangre se deposita con cuidado en el recipiente adecuado vaciando suavemente por las paredes del tubo evitando la formación de espuma.

NOTA: Utilizamos tubos con anticoagulantes para los estudios hematológicos, los tubos se invierten con suavidad varias veces hasta lograr un completo mezclado de la sangre con el anticoagulante.

Procedimiento de Punción Capilar:

1. Realizar una presión longitudinal o masaje suave en la zona, esto favorece la vasodilatación.
2. Desinfectar la zona con alcohol al 70%, aplicando una torunda de algodón, se espera que seque.
3. Puncionar con lanceta, desechando las dos primeras gotas por contener líquido tisular.
4. Llenar el capilar, pipeta etc., la sangre debe fluir espontáneamente. En caso que fluya con dificultad o haya necesidad de exprimir es preferible repetir la punción capilar para evitar la hemodilución de la muestra.
5. Después de que se ha obtenido la adecuada cantidad de sangre, se efectúa una ligera presión en el lugar de la puntura mediante un trozo de algodón empapado con alcohol, hasta que cese la hemorragia.

CRITERIOS DE EVALUACIÓN:

Se evaluará la toma de muestra en el laboratorio, taller y participación en clase.

PRÁCTICA Nº 2: ANTICOAGULANTES UTILIZADOS EN HEMATOLOGÍA

I. INTRODUCCIÓN

Las soluciones de anticoagulantes son sustancias que inhiben el proceso de coagulación, se utilizan para obtener plasma o muestra de sangre total, para estudiar las características morfológicas y realizar los diferentes recuentos celulares.

El anticoagulante idóneo debe cumplir con ciertas propiedades:

- No alterar el tamaño de los hematíes.
- No alterar la morfología de los leucocitos.

- Solución isotónica (para que no produzca hemólisis).
- Evite agregación plaquetaria.

Los anticoagulantes más utilizados en hematología son:

- EDTA.
- Heparina sódica-heparina litio.
- Citrato sódico.

II. OBJETIVOS

Objetivo General:

- Capacitar al estudiante en las diferentes clases de anticoagulantes y como utilizarlos según los estudios hematológicos.

Objetivos Específicos:

- Utilizar correctamente el anticoagulante según el estudio a realizar.
- Correlacionar la teoría con la práctica.

III. FUNDAMENTO

Es necesario saber cuáles son los anticoagulantes de mayor utilidad en hematología y, en que momento se utiliza para obtener una muestra idónea.

IV. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS

- Tubos con solución anticoagulante EDTA.
- Tubos con solución anticoagulante citrato de sodio al 3.8%
- Agujas.
- Jeringas de 5 cc.
- Gradillas.

- Torniquete.
- Alcohol, algodón.

V. METODOLOGÍA

Los estudiantes se agrupan en grupos de a dos y las muestra obtenidas por punción venosa serán obtenidas con diferentes soluciones anticoagulantes.

CRITERIOS DE EVALUACIÓN:

Se evaluará informe, taller, y se evaluará al final del periodo con una prueba escrita.

VI. TALLER DE VENOPUNCIÓN Y ANTICOAGULANTES

1. Investigue acerca del sistema de obtención de muestra de sangre con tubos al vacío (sistema vacutainer y su codificación).
2. Investigue los anticoagulantes utilizados en hematología, uso y cuál sería la proporción sangre-anticoagulante a utilizar.
3. ¿Qué anticoagulante utilizaría usted que permita conservar la morfología celular sin que se altere la morfología en el frotis de sangre? ¿Cuál es el anticoagulante utilizado para realizar pruebas de coagulación?
3. ¿Qué ocurriría si la proporción de anticoagulante y sangre no es adecuada? Justifique.
4. ¿Qué ocurriría si al tomar la muestra de sangre no la mezcla correctamente?

PRÁCTICA Nº 3 EXTENSIÓN O FROTIS SANGUÍNEO

I. INTRODUCCIÓN

El extendido o frotis de sangre como su nombre lo indica es una extensión de sangre realizada sobre un portaobjetos o cubreobjetos, con el fin de estudiar la morfología celular de la sangre previa coloración con tinciones hematológicas.

Hay dos métodos:

- Método del cubreobjetos.
- Método del portaobjeto.

II. OBJETIVOS

Objetivo General:

Comprender la importancia de la extensión de sangre periférica, debido a que su estudio se utiliza tanto para el diagnóstico de enfermedades y alteraciones hematológicas, como para la realización del recuento diferencial.

Objetivo Específico:

- Realizar extensiones de sangre correctamente.

III. MÉTODO

Portaobjeto y Cubre-objeto:

IV. FUNDAMENTO

Al realizar e extendido, se podrá observar la cabeza el cuerpo y la cola, posteriormente en este podremos hacer el estudio de las células sanguíneas.

V. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPO

- Portaobjetos.
- Cubre-objetos.
- Papel absorbente.
- Pipetas.
- Gradillas.
- Marcador vidrio gráfico.

VI. MUESTRA

Muestra de sangre con anticoagulante.

VII. PROCEDIMIENTO

1. Depositar una gota de sangre (aproximadamente 5 microlitros) en un extremo de un portaobjeto, a uno 2 cm del bisel.
2. Colocar otro portaobjeto sobre el portaobjeto anterior con la gota de sangre, con una inclinación de 45°, inicialmente por la parte anterior de la gota de sangre, sucesivamente desplazarlo hacia atrás, hasta entrar en contacto con la gota y permitir que por capilaridad, la misma se extienda uniformemente a lo largo del bisel del portaobjetos.
3. Deslizar el segundo portaobjetos inclinado sobre el primero de manera suave y rápida para permitir que la gota de sangre quede extendida. Según la inclinación que se dé al portaobjetos que se desliza así será el grosor de la extensión, donde a mayor inclinación será más gruesa y más fina con menos inclinación.
4. El secado se realiza al aire, a temperatura ambiente.

El frotis sanguíneo así realizado se diferencian tres zonas:

- a) Cabeza o zona inicial del extendido, que es la zona más gruesa y donde se encuentran una mayor proporción de linfocitos.
- b) Cuerpo o zona intermedia, donde existe una adecuada proporción de los leucocitos, la zona ideal para realizar el recuento diferencial leucocitario.

- c) Cola o zona fina, que corresponde al final de la extensión, donde hay un aumento proporcional de neutrófilos y monócitos.

Procedimiento extendido en Cubre-objeto:

- 1- Sujetar el cubreobjetos por las esquinas adyacentes con los dedos pulgar e índice de cada mano.
- 2- Con el centro del cubreobjetos de la mano derecha se toca la gota de sangre sin llegar a tocar la piel, se invierte y, colocar sobre un segundo cubreobjetos cruzado con respecto al primero de manera que los ángulos formen una estrella de ocho puntas.
- 3- La sangre se extiende por acción capilar entre las dos superficies. Esperar de dos a cuatro segundos y separar los cubreobjetos mediante un movimiento deslizante paralelo. No deben separarse por tracción.
- 4- Colocar en posición vertical y se deja secar.

CRITERIOS DE EVALUACIÓN:

Se evaluará la práctica realizada. Informe.

PRÁCTICA Nº 4 TINCIONES HEMATOLÓGICAS

I. INTRODUCCIÓN

Las tinciones hematológicas son útiles en el estudio de la morfología y diferenciación celular de los componentes sanguíneos.

Una vez realizada la extensión y secada al aire, esta debe ser fijada, los métodos de tinción utilizados actualmente ya llevan incorporado el fijador.

Los colorantes más comúnmente utilizados para las tinciones hematológicas son los denominados colorantes de Romanowsky, derivados de la anilina. Según su composición química se distinguen tres grupos: los ácidos como la eosina, básicos

como el azul de metileno y neutros combinaciones de uno ácido y uno básico que dan tinciones policromas.

Las distintas estructuras celulares se tiñen con el colorante del pH antagónico, así los colorantes ácidos teñirán las estructuras como la hemoglobina, los gránulos de los leucocitos eosinófilos, así llamados por su atracción hacia la eosina.

Los colorantes básicos teñirán las estructuras ácidas, como el ADN y ARN citoplasmática denominadas estructuras basófilas, y las estructuras neutrófilas serán aquellas que tienen afinidad por ambos tipos de colorantes.

II. OBJETIVOS

Objetivo General:

- Conocer los colorantes más comúnmente utilizados para las tinciones hematológicas (colorantes de Romanowsky), composición y fundamento.

Objetivo Específico:

- Realizar correctamente la coloración de Wright.

III. MÉTODO

Coloración de Wright.

IV. FUNDAMENTO

Al colorear el frotis realizado, el colorante más comúnmente utilizados para las tinciones hematológicas son los denominados colorantes de Romanowsky, derivados de la anilina. Según su composición química se distinguen tres grupos: los ácidos como la eosina, básicos como el azul de metileno y, neutros combinaciones de uno ácido y uno básico que dan tinciones policromas, estos nos permiten distinguir las células sanguíneas.

V. REACTIVO, MATERIALES Y EQUIPOS

- Reloj con minuterero.
- Cubeta para tinción.
- Dos varillas o rejillas.
- Frasco lavador con agua destilada.
- Pipetas Pasteur.
- Solución tampón de fosfato ph 6.4 (opcional)
- Papel filtro.
- Colorante Wright.

VI. MUESTRA

Muestra de sangre con anticoagulante.

VII. PROCEDIMIENTO

Para la preparación del colorante de Wright se pesan 0.1 g por cada 60 ml de alcohol metílico absoluto, la disolución debe hacerse añadiendo el alcohol poco a poco hasta la total disolución del reactivo en polvo, se deja en reposo 24 – 48 horas para la maduración y filtración, debe conservarse en frasco oscuro y filtrarse antes de su uso.

Técnica:

1. Colocar las varillas o rejillas sobre la cubeta de tinción y poner sobre ellas el portaobjetos con el frotis hacia arriba. No es necesario fijarlo previamente, el metanol del colorante actúa como fijador.
2. Añadir el colorante gota a gota, hasta que toda la extensión quede cubierta, dejar que actúe de 1 – 2 minutos (dependerá de la concentración del reactivo, debe ser comprobado y ensayado para cada lote).

3. Transcurrido el tiempo fijado, se añade un volumen igual de agua destilada o de la solución tampón de fosfato y se deja actuar 4-5 minutos. Tener la precaución de no derramar el colorante.
4. Soplar suavemente en distintos puntos del portaobjetos para que se mezcle bien el colorante con el agua o el tampón y la coloración sea uniforme (una escarcha metálica verde debe aparecer).
5. Lavar la extensión suavemente con agua destilada, por medio del frasco lavador, hasta que tome un color rosado, no se debe volcar el portaobjetos para eliminar el colorante antes de haberlo lavado bien con el agua, con el fin de evitar que se depositen restos de este en la lámina.
6. Enjuagar los reverses de la lámina para quitar el exceso de colorante. Limpiar la parte inferior del portaobjetos con papel filtro o una gasa humedecida en alcohol.
7. Secar la extensión por agitación al aire, con calor suave o dejándola en posición inclinada con la cola hacia arriba, sobre un soporte de madera o sobre papel filtro para que se seque por evaporación.

VIII.TALLER DE TINCIONES HEMATOLÓGICAS

1. Investigue las diferentes clases de tinciones hematológicas, fundamento y utilidad.

PRÁCTICA Nº 5 HEMOGLOBINA

I. INTRODUCCIÓN

La hemoglobina es el elemento más importante de la composición del glóbulo rojo o eritrocito. Es la proteína que transporta oxígeno y bióxido de carbono, sus valores dependen de factores como la edad, el sexo, y la altura a nivel del mar. Está formada por un grupo hem y un grupo globina que es la parte proteica de la estructura de la molécula de hemoglobina.

La hemoglobina normal del adulto está compuesta por HbA1 (93%), un pequeño porcentaje de HbA2 y HbF. La determinación de la hemoglobina en los estudios hematológicos es de gran importancia para determinar los diferentes tipos de anemias en un individuo.

II. OBJETIVO

Objetivo General:

- Comprender el concepto de hemoglobina, importancia, criterios clínicos y analíticos.

Objetivos Específicos:

- Determinar la concentración de hemoglobina en la sangre con el método de cianmetahemoglobina.
- Realizar correctamente la técnica.

III. MÉTODO

Cianmetahemoglobina

IV. FUNDAMENTO

Al adicionar a la sangre una solución que contiene cianuro de potasio y ferrocianuro de potasio (reactivo de drabkin), el ferrocianuro de potasio oxida la hemoglobina a metahemoglobina, una vez combinada esta con el cianuro de potasio se forma un pigmento estable, cianmetahemoglobina.

La lectura se realiza a través del espectrofotómetro a 540 nm midiendo la intensidad del color. La densidad óptica es proporcional a la concentración de hemoglobina.

V. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS

- Fotocolorímetro.

- Tubos de 13 x100 con EDTA
- Reactivo de drabkin.
- Tabla de lectura.
- Pipetas automáticas 1cc, 10ul.
- Gradillas.
- Cubetas para leer.

VI. MUESTRA

Muestra de sangre con anticoagulante EDTA

VII. PROCEDIMIENTO

1. Depositar 1 ml de reactivo de drabkin en un tubo de ensayo.
2. Medir con la pipeta automática exactamente 0.01 ul de sangre, añadir al reactivo de drabkin y se enjuaga la pipeta varias veces con la solución.
3. Mezclar bien la solución.
4. Dejar en reposo por 10 minutos a temperatura ambiente para asegurar el desarrollo de la hemólisis y del color.
5. Transferir a una cubeta seca y limpia del espectrofotómetro y leer a 540 nm usando el reactivo de drabkin como blanco (% Transmitancia) llevándolo a 100%
6. Anotar el porcentaje de Transmitancia y efectuar la lectura en la curva para obtener el valor de hemoglobina en gr%.

VALORES NORMALES:

Hombres adultos: 13- 15 gr%

Mujeres adultos: 12- 14 gr%

CRITERIOS DE EVALUACIÓN:

Se evaluará la práctica realizada, informe.

PRÁCTICA Nº 6 HEMATOCRITO O VOLUMEN GLOBULAR

I. INTRODUCCIÓN

Se define el hematocrito como el volumen o porcentaje de glóbulos rojos centrifugados. La sangre anticoagulada y centrifugada a una velocidad y tiempo determinados, según la fuerza centrífuga relativa (fcr), es separada en sus componentes que se disponen en capa sucesivas de abajo hacia arriba: Eritrocitaria, leucocitaria, plaquetaria y plasmática.

II. OBJETIVOS

Objetivo General:

- Conocer el concepto de hematocrito en sangre y su relación con la concentración de hemoglobina, y utilidad en el diagnóstico de las anemias.

Objetivos Específicos:

- Realizar correctamente la técnica por micro y macrométodo
- Manejar las tablas lectoras.

III. MÉTODO

Microhematocrito o Micrométodo.

IV. FUNDAMENTO

Al centrifugar la sangre se agrupan los glóbulos rojos y se mide el espacio que estos ocupan, lo cual se expresa como porcentaje del volumen total de sangre.

V. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS

- Tubos capilares.
- Cera selladora o plastilina.
- Papel o gasa.
- Microcentrifuga.
- Tabla lectora de microhematocrito.
- Tubos vacutainer.
- Portaobjeto y cubreobjeto.
- Elementos de asepsia.

VI. MUESTRA

Sangre con anticoagulante Edta.

VII. PROCEDIMIENTO

- 1- Si se utiliza sangre capilar, se desechará la primera gota después de la punción; si la sangre es venosa, se deberá homogenizar muy bien la muestra antes de su uso.
- 2- Llenar el tubo capilar unas tres cuartas partes de su capacidad con la sangre; el llenado de los tubos se realiza por capilaridad, favoreciendo el proceso inclinando el capilar hacia abajo a medida que se va llenando.
- 3- Limpiar con papel o gasa el capilar y tapar el extremo limpio con plastilina, de forma que la superficie de esta sea lisa y facilite después la lectura.
- 4- Una vez cerrados los capilares, se colocan en la centrifuga de modo que quede perfectamente equilibrada, con los extremos cerrados hacia fuera y perfectamente ajustados al borde exterior de goma y encajados en sus surcos correspondientes. Si no se colocan bien los capilares podrían romperse o derramarse.

- 5- Centrifugar durante 5 minutos a 12.000 rpm, si el valor obtenido es mayor de 50% se centrifugaran otros 5 minutos adicionales para asegurar que el resultado es correcto.
- 6- Al detenerse la centrifuga se extraen los capilares y se procede a la lectura con la tabla lectora de hematocrito.

LECTURA EN LA TABLA LECTORA

Se coloca el extremo inferior de la columna de sangre en la línea correspondiente a "0". El plasma debe cuadrarse a cien (100). Se debe leer el porcentaje ocupado por la capa roja, correspondiente este al volumen globular o hematocrito.

La lectura del hematocrito debe hacerse obviando la capa de blancos.

VALORES NORMALES:

Mujer adulta: 36 – 42%

Hombres adultos: 39- 52%

CRITERIO DE EVALUACIÓN: Se evaluará la práctica realizada, informe.

PRÁCTICA Nº 7 VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN GLOBULAR (V.S.G.)

I. INTRODUCCIÓN

La velocidad de sedimentación globular es la velocidad a la cual sedimentan los componentes celulares de la sangre, al colocarla en un tubo perpendicular en condiciones normales de temperatura, sin someterla a ningún procedimiento de centrifugación.

II. OBJETIVOS

Objetivo General:

- Conceptuar sobre la velocidad de sedimentación globular, permitiendo la correlación de los resultados con las diferentes patologías.

Objetivos Específicos:

- Conocer las técnicas de montaje para la V.S.G
- Identificar los factores que la afectan.
- Realizar correctamente la técnica de V.S.G. por el método de wintrobe.

.III. MÉTODO

Wintrobe.

IV. FUNDAMENTO

Los eritrocitos de una muestra de sangre venosa bien mezclada y colocada en un tubo vertical tenderán a caer hacia el fondo. La velocidad de sedimentación de los eritrocitos es equivalente a la longitud del recorrido descendente de la parte superior de la columna de eritrocitos en un intervalo de una hora, interviniendo varios factores en este valor.

V.- REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS

- Tubos de wintrobe graduado.
- Soporte para tubo de wintrobe.
- Cánulas o jeringa de wintrobe y jeringas.
- Aguja de hematocrito.

VI.- MUESTRA

Sangre total recogida en EDTA.

VII.PROCEDIMIENTO

Fase inicial o de agregación:

Es la tendencia de los hematíes a formar agregados en forma de "pilas de moneda". Estos sedimentan de forma muy lenta por lo que van a determinar la velocidad de todo el proceso 10 minutos.

Sedimentación: Desplazamiento de los hematíes hacia el fondo de la pipeta a velocidad constante 45 min.

Acumulo o depósito: en el fondo 5 minutos.

Procedimiento:

1. Mezclar bien la sangre.
2. Llenar bien el tubo de wintrobe hasta la señal "0" cero usando una jeringa con cánula.
3. Colocar el tubo en un soporte en posición vertical.
4. Dejar transcurrir una hora.
5. Pasado este tiempo se observa el número de mm. que han descendido los eritrocitos.

LECTURA:

El resultado obtenido es la V.S.G. en mm. por hora.

VALORES NORMALES:

Niños: 0 -- 15 mm./h

Hombres: 0 – 10 mm./h

Mujeres: 0 – 20 mm./h

CRITERIOS DE EVALUACIÓN:

Se evaluará la práctica realizada, informe y taller.

VIII. TALLER DE LA HEMOGLOBINA, HEMATOCRITO Y VSG

1. Describir la composición química de la molécula de hemoglobina.
2. Investigue otras clases de hemoglobina anormales.
3. Existe alguna relación entre el hematocrito y la hemoglobina.
4. Defina los términos anemia, policitemia, eritrocitosis.

PRÁCTICA Nº 8: RECUENTO DE GLÓBULOS ROJOS O ERITROCITOS

I. INTRODUCCIÓN

Los glóbulos rojos son células bicóncavas, de tamaño pequeño, miden de 6 – 8 micras de diámetro y cuya función principal es el transporte de oxígeno a los tejidos, su deficiencia y exceso traen como consecuencia una serie de enfermedades que son de gran interés clínico.

II. OBJETIVOS

Objetivo general:

- Conocer aspectos generales relacionados con los de eritrocitos presentes en la sangre periférica, función, diagnóstico de entidades hematológicas y la técnica para realizar el recuento.

Objetivos Específicos:

- Realizar correctamente la técnica de recuento de eritrocitos.
- Conocer la cámara de Neubauer y su utilidad en hematología.

III. FUNDAMENTO

Los glóbulos rojos son células bicóncavas, de tamaño pequeño, miden de 6 – 8 micras de diámetro y cuya función principal es el transporte de oxígeno a los tejidos,

su deficiencia y exceso traen como consecuencia una serie de enfermedades que son de gran interés clínico.

V.- REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS

- Microscopio.
- Solución salina al 0.85%.
- Cámara de Neubauer.
- Muestra de sangre venosa recogida en EDTA.
- Cámara de Neubauer (indispensable para la realización de la práctica).
- Jeringas de 5 cc.-torniquete.
- Pipeta de glóbulos rojos (pipeta de Thomas).

VI.- MUESTRA

Sangre con anticoagulante EDTA.

VII.- PROCEDIMIENTO

- 1- Mezclar la sangre por 1- 2 minutos invirtiendo el tubo suavemente (no agitar).
- 2- Realizar la dilución de la sangre en tubo. (dilución 1:200)
- 3- Tomar 10 μ l (0.01 de sangre) + 2 cc. de solución salina 0.85% obteniendo igualmente una dilución 1:200
- 4- Mezclar la dilución mediante un agitador durante 3 minutos o manualmente.
- 5- Llenar la cámara de recuento Neubauer, limpia y seca.
- 6- Usando el objetivo de 10x del microscopio, se enfoca sobre el cuadro grande en el centro de la cámara que tiene un área de 1 mm³
- 7- Contar los glóbulos rojos que se encuentran en los cuadros de la esquinas y del centro.
- 8- Repetir los ítems 8 y 9 la misma área en el otro lado de la cámara.

- 9- Omitir el recuento de los glóbulos rojos localizados en uno de los ángulos de los extremos.
- 10- Calcular el recuento de glóbulos rojos para cada lado de la cámara.

El cálculo se realiza de la siguiente manera:

Glóbulos rojos contados en el centro de la cámara los cinco (5) cuadros x 10.000

Esta constante 10.000 sale de la siguiente ecuación:

Nº glóbulos rojos contados en 5 cuadrados pequeños.

Dilución: 1 / 200

Corrección del área contada: 0.2 (5/25)

Corrección de profundidad de la cámara: 0.1

$$\text{Fórmula} = \frac{200}{0.1} \times 5 = 10.000$$

De donde: Nº de eritrocitos contados x 10.000 = eritrocitos x mm³

Se promedian los dos resultados y se da el informe como eritrocitos por mm³

VALORES NORMALES:

- Hombres: 4.2 – 5.6 millones /mm³
- Mujeres 3.6 – 5.0 millones /mm³

PRÁCTICA Nº 9 ÍNDICES HEMÁTICOS O CONSTANTES CORPUSCULARES

I. INTRODUCCIÓN

Los índices hemáticos son importantes para definir el tamaño y contenido de hemoglobina del glóbulo rojo. Ellos nos revelan el volumen corpuscular medio (VCM), la hemoglobina corpuscular media (HCM), y la concentración de la hemoglobina corpuscular media (CMHC). Estos se utilizan como ayuda para diferenciar las anemias, junto con el frotis de sangre, indican el estado de la morfología de los glóbulos rojos. Pueden calcularse los índices usando los valores de la hemoglobina, el hematocrito y el recuento de glóbulos rojos.

II. OBJETIVOS

Objetivo General:

- Conocer los índices hemáticos y utilidad en las clasificaciones de las anemias.

Objetivo Específico:

- Definir los distintos índices corpusculares y conocer el valor diagnóstico.

III. Método: Volumen Corpuscular Medio (VCM)

El VCM nos indica el volumen promedio en tamaño de los glóbulos rojos.

FÓRMULA:

$$\text{V.C.M en } \mu\text{3} = \frac{\text{Hematocrito} \times 10}{\text{N}^\circ \text{ de Eritrocitos} \times \text{mm}^3}$$

VALOR NORMAL: 80- 100 μ3

INTERPRETACIÓN:

El V.C.M indica si los glóbulos rojos son normocíticos, microcíticos o macrocíticos, si el V.C.M. es más bajo de lo normal son microcíticos.

Más alto que lo normal macrocíticos, y dentro de los límites normales son normocíticos.

Método: Hemoglobina Corpuscular Media (HCM)

La HCM indica el peso promedio de hemoglobina de los glóbulos rojos.

FÓRMULA:

$$\text{HCM en pg} = \frac{\text{Hemoglobina (gr\%)} \times 10}{\text{N}^\circ \text{ de Eritrocitos x mm}^3}$$

VALOR NORMAL: 27- 33 pg

INTERPRETACIÓN:

La HCM indica la cantidad de hemoglobina en el glóbulo rojo, siempre debe realizarse con el VCM y la CHCM. En anemia microcítica la HCM es más baja de 27%, también con glóbulos rojos normocíticos e hipocrómicos. Una HCM alta la encontramos en anemias macrocíticas y en algunos casos de esferocitosis.

La microcitosis se acompaña siempre de hipocromía, de forma que una disminución del VCM se asocia invariablemente a una HCM.

Método: Concentración de la Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM):

La CHCM es una expresión de la concentración promedio de hemoglobina en los glóbulos rojos, da la proporción del peso de hemoglobina al volumen de glóbulos rojos.

FÓRMULA:

$$\text{CHCM en \%} = \frac{\text{Hemoglobina (gr\%)} \times 100}{\text{Hematocrito (\%)}}$$

VALOR NORMAL: 32- 36%

INTERPRETACIÓN:

La CHCM indica si los glóbulos rojos son normocíticos o no.

Una CHCM más baja de lo normal indica hipocromía. Una CHCM muy alta es rara y significa esferocitosis. Los glóbulos rojos con una CHCM normal son normocrómicos.

NOTAS:

- 1- La exactitud de los índices eritrocitarios dependen de la precisión de los resultados de la hemoglobina, hematocrito y el recuento de glóbulos rojos. Debido a que sirven de base para los cálculos, de allí la importancia de tener resultados correctos para estas pruebas.
- 2- Deben chequearse los índices con la morfología de los glóbulos rojos.

IV.TALLER DE LOS ÍNDICES CORPUSCULARES

1. Defina los siguientes términos:

- Anisocitosis
- Poiquilocitosis
- Microcitos
- * Hipocromía
- * Policromatofilia
- * Macroцитos

2. Investigue las inclusiones patológicas que se pueden encontrar en los glóbulos rojos.

PRÁCTICA Nº 10 RECUENTO DE GLÓBULOS BLANCOS O LEUCOCITOS

I. INTRODUCCIÓN

Los glóbulos blancos o leucocitos son células de un tamaño aproximado de 12 – 14 micras, se encuentran divididos en dos grandes grupos; granulocitos y agranulocitos, dependiendo de si poseen o no poseen gránulos. En polimorfonucleares y mononucleares dependiendo de si tienen uno o más núcleos, estos cumplen una función de defensa contra los microorganismos en el ser humano.

El recuento de glóbulos blancos es de gran interés, tanto para el diagnóstico como para el seguimiento de algunas enfermedades.

II. OBJETIVOS

Objetivo General:

- Determinar el número de leucocitos presentes en sangre periférica, relacionar su función y aplicabilidad en las enfermedades hematológicas.

Objetivo Específico:

- Realizar correctamente la técnica y el recuento de leucocitos.

III. MÉTODO

Recuento de Leucocitos en Cámara de Neubauer

IV. FUNDAMENTO:

Al hacer una dilución de sangre en una pipeta para glóbulos blancos (pipeta de Thomas) o en tubo utilizando ácido acético al 3% con azul de metileno (colorante), como líquido diluyente que destruye los glóbulos rojos, para hacer más visibles

los glóbulos blancos, contarlos en los cuadrantes respectivos de la cámara de Neubauer y expresar el resultado del conteo en mm^3 .

V. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

- Microscopio.
- Ácido acético glacial al 3%
- Cámara de Neubauer.
- Sangre venosa recogida en EDTA.
- Jeringas de 5cc. –torniquete.
- Vacutainer o tubos al vacío.

VI. MUESTRA

Sangre con anticoagulante EDTA.

VII. PROCEDIMIENTO

- 1- Mezclar la sangre por 2- 3 minutos, invirtiendo el tubo o recipiente. No agitación
- 2- Pipetear 0.2 ul de líquido diluyente o de Turk, + 10 ul de muestra (0.01ul), limpiar la punta de la pipeta que no quede sangre, mezclarla con en el líquido de turk, queda una dilución 1/20
- 3- Mezclar por espacio de 3 minutos en forma manual o mecánica, con el fin de que los hematíes queden totalmente hemolizados.
- 4- Colocar la punta de pipeta y depositarlo en la cámara de Neubauer previamente limpia y seca para que el líquido descienda en forma gradual hasta llenar el área de la cuadrícula, esto se llena por capilaridad.
- 5- Una vez llena la cámara se deja en reposo durante 1 minuto con el fin de que los leucocitos se sedimenten.

Características de una cámara de recuento llena en forma adecuada, son:

- El líquido tiene por completo o poco menos el espacio situado debajo de la lámina de cuarzo.
- Ninguna porción de líquido se haya deslizado al foso.
- No existan burbujas.
- Si no se cumplen algunas de las condiciones anteriores el recuento carece de garantías y se debe repetir el procedimiento.

RECUENTO:

1. Colocar la cámara en el microscopio y enfocar con el objetivo de 10x, observando la distribución celular de los cuatro cuadrantes de los extremos. Es necesario que los leucocitos se hayan repartidos de igual forma en los cuatro cuadrantes, con una diferencia no mayor de 10 células entre cada cuadro.
2. Comenzar por el cuadrado de la parte superior izquierda, se cuentan todos los leucocitos que se hallen en los cuatros cuadros grandes laterales y se suma el resultado para obtener el total de células.
3. Para este recuento es necesario llevar cierto orden que consiste en contar los leucocitos situados sobre dos de las cuatros líneas limitantes, se recomienda la línea superior y la izquierda, omitiendo las otras y procediendo de la misma forma en todos los cuadrantes. De esta manera se evita contar equivocadamente dos veces los mismos glóbulos en dos cuadrados contiguos.

CÁLCULOS:

Glóbulos blancos /mm³ = números de leucocitos x 50 (factor).

VALORES NORMALES:

ADULTO: 5.000 -10.000 x mm³

RECIEN NACIDOS: 15.000-30.000 x mm³

NOTAS:

El factor resulta de:
$$\frac{20 \text{ diluciones} \times 10 \text{ constante del volumen de la cámara}}{4 \text{ números de cuadrantes contados}}$$

NOTAS:

- Recuentos de glóbulos blancos por debajo de 4.000, se hace una dilución 1/10 y el factor por multiplicar sería 25.
- Recuentos de glóbulos blancos superiores a 13.000 se hace una dilución 1/100 y el factor sería 250.
- Recuentos de glóbulos blancos superiores a 30.000 e inferiores a 100.000 se hace una dilución 1/200, el factor sería 500.
- En casos de leucosis (leucemias), se puede hacer una dilución 1/1.000 y el factor sería 2.500.

CORRECCIÓN DEL RECuento DE GLÓBULOS BLANCOS EN PRESENCIA DE GLÓBULOS ROJOS NUCLEADOS EN SANGRE PERIFÉRICA (NORMOBLASTOS)

En casos patológicos pueden existir glóbulos rojos nucleados en sangre periférica, los cuales no son destruidos por el líquido de dilución, ya que se lisan todos los glóbulos anucleados, más no los nucleados, de tal manera que se obtienen resultados erróneos, al ser contados estos como leucocitos en el recuento de glóbulos blancos. Por tanto, siempre que se encuentren 5 o más glóbulos rojos

FÓRMULA:

$$\frac{\text{Recuento de glóbulos blancos} \times 100}{100 + \text{N}^{\circ} \text{ de glóbulos rojos nucleados}}$$

EJEMPLO: Recuento de leucocitos: 40.000/mm³
Nº de normoblastos: 101 (en el diferencial)

$$X = \frac{40.000 \times 100}{100 + 101} = 19.900/\text{mm}^3$$

La cifra obtenida se expresa como recuento corregido de leucocitos en forma directa.

CRITERIOS DE EVALUACIÓN:

Se evaluará la práctica realizada, informe.

PRÁCTICA Nº 11 RECuento DIFERENCIAL O FORMULA LEUCOCITARIA

I. INTRODUCCIÓN

La fórmula leucocitaria es el recuento diferencial de cada uno de los leucocitos presentes en la sangre periférica.

Este recuento establece el porcentaje de los diferentes elementos leucocitarios. Y se clasifican en dos grandes grupos:

- Polimorfonucleares: Neutrófilos, Eosinófilos y Basófilos
- Mononucleares: Linfocitos y Monocitos

El recuento diferencial o fórmula leucocitaria es de vital importancia para el diagnóstico de varias enfermedades, pues permite confirmar la presencia de ellas y como monitoreo de la terapia respectiva.

II. OBJETIVOS

Objetivo General:

- Realizar el recuento porcentual de los diferentes leucocitos que circulan por la sangre en cien células, diferenciando correctamente según su morfología.

Objetivos Específicos:

- Identificar morfológicamente cada uno de los diferentes leucocitos presentes en un frotis de sangre periférica normal.
- Realizar correctamente la fórmula leucocitaria en un frotis de sangre periférica normal.

III. MÉTODO

Cámara de Neubauer Recuento de leucocitos.

IV. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS

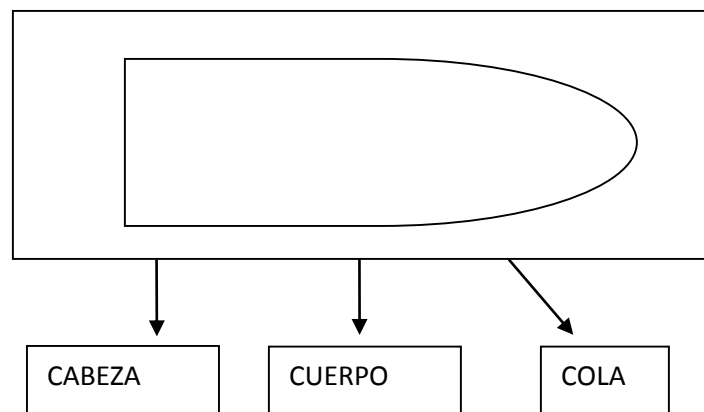
- Microscopio.
- Colorante de Wright.
- Aceite de inmersión.
- Elementos de bioseguridad y de identificación.
- Jeringas desechables de 5.cc.-torniquete.
- Láminas portaobjetos.
- Contador de células o piano.

V. MUESTRA.

Sangre venosa recogida con EDTA.

VI. PROCEDIMIENTO

1. Se realizará un frotis de sangre periférica, se coloreará con colorante de Wright según guía 3 y 4.
2. Para hacer el recuento se escoge el área donde el extendido no este ni muy grueso, ni muy delgado.
3. Se selecciona la zona ideal donde las células puedan ser observadas en toda su superficie y sin artefactos tanto en el tamaño como en la forma. Esta zona corresponde a la denominada “cuerpo del frotis” que está situada entre la cabeza y la cola del frotis. Al realizar el recorrido debe escogerse un trayecto en el cual el 5% de las células contabilizadas pertenecen a las zonas periféricas o borde, y el 95% restante a la zona central, teniendo el cuidado de no contar dos veces las mismas células.



Esquema 1: De un frotis sanguíneo con indicación de las diferentes áreas que lo componen y la distribución celular de las mismas.

Recuento Absoluto = Recuento relativo x no de leucocitos

LEUCOCITOS PRESENTES NORMALMENTE EN SANGRE PERIFÉRICA:

- Neutrófilos.
- Linfocitos.
- Eosinófilos.
- Monocitos.
- Basófilos.
- Cayados o bandas.

VALORES DE REFERENCIA:

CÉLULA	NIÑO	ADULTO
NEUTRÓFILOS	45 – 50 %	50 -65 %
CAYADOS	0 – 4 %	0 – 4 %
EOSINÓFILOS	1 – 5 %	1 - 5 %
BASÓFILOS	0 - 2 %	0 – 2 %
MONÓCITOS	4 -10 %	4 – 10 %
LINFÓCITOS	40 – 45 %	25 – 40 %

VALOR NORMAL ABSOLUTO:

PMN: 2.000 - 7.000 X mm³
 EOSINÓFILOS: 50 – 350 X mm³
 LINFÓCITOS: 1.000- 4.000 X mm³
 MONÓCITOS: 100 – 700 X mm³
 BASÓFILOS: 0 – 50 X mm³

NOTAS:

- 1- Evaluar la calidad del frotis en objetivo de bajo poder (10x).
- 3- Calcular el valor aproximado de los glóbulos blancos con objetivo de poder bajo (10x).
- 3- Examinar la morfología de los glóbulos rojos con el objetivo de de inmersión (100x).
- 4- Realizar el recuento diferencial, examen de la morfología de los glóbulos blancos al igual que el número y morfología de las plaquetas en (100x).

VII.TALLER DE LEUCÓCITOS

- 1- Investigue valores de referencia normales de los diferentes tipos de leucócitos en sangre periférica.
- 2- Defina los términos: leucopenia-leucocitosis-neutropenia;.neutrofilia-eosinofilia-linfocitosis.
- 3- Describa las principales causas de neutropenia, neutrofilia, eosinofilia y linfocitosis.

PRÁCTICA Nº 12 RECUENTO DE PLAQUETAS

I. INTRODUCCIÓN

Las plaquetas son fragmentos citoplasmáticos, sin núcleos, discoides, planas, ligeramente convexas, que circulan en la sangre libremente y se originan en la medula ósea, a partir de los megacariocitos, tienen un diámetro de 2 – 20 micras y su vida media es de 8 – 10 días; la cantidad normal en la sangre oscila entre 150.000-400.000 xmm³.

Cumplen una función especial en el proceso de la coagulación sanguínea a través de la formación del trombo plaquetario.

II. OBJETIVOS

Objetivo General:

- Determinar la concentración de plaquetas presente en la sangre circulante, función y aplicabilidad en las enfermedades hematológicas.

Objetivo Específico:

- Realizar correctamente la técnica de recuento de plaquetas por el método directo e indirecto.

III. MÉTODO Indirecto para recuento de plaquetas.

IV. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS

- Microscopio.
- Colorante de Wright.
- Sangre recogida en EDTA.
- Elementos de bioseguridad y de identificación.
- Jeringas de 5cc.-torniquete.
- Laminas portaobjetos.

V. MUESTRA

Sangre venosa con anticoagulante.

VI. PROCEDIMIENTO

1. Realizar en un frotis de sangre periférica del paciente según guía número 3.
2. Colorear por técnica de Wright (guía no 4) y observar con el objetivo de inmersión (100x).
3. Buscar campos de aproximadamente 200 glóbulos rojos.
4. Contar el número de plaquetas por campo en mínimo 10 campos.

5. Obtener el promedio del número de plaquetas por campo y multiplicar por una constante experimental (21.000)

FÓRMULA:

$$\text{Plaquetas} = \frac{\text{N}^\circ \text{ total de plaquetas contadas} \times 21.000}{\text{N}^\circ \text{ de campos contados}}$$

VII. TALLER 7

- 1- Analice y estudie la estructura plaquetaria y el mecanismo de acción del trombo plaquetario.
- 2- Defina que es trombocitopenia y trombocitosis y las causas de ellas.

PRÁCTICA N° 13 RETICULOCITOS

I. INTRODUCCIÓN

Los reticulocitos son células jóvenes que salen de la medula ósea a la circulación con restos de retículos compuestos de ácido ribonucleico y desaparecen a las 24 horas. Los reticulocitos carecen de núcleo y contienen restos de RNA (ribosomas), que es un compuesto que se precipita en presencia de ciertos colorantes llamados “vitales”, tales como el azul de cresil brillante (ACB), o el azul de metileno nuevo (AMN).

El número normal de reticulocitos es de 0.2 – 2% y este refleja la producción de eritrocitos por la medula ósea o eritropoyesis.

II. OBJETIVOS

Objetivo General:

- Determinar el porcentaje de reticulocitos presentes en sangre circulante.

Objetivo Específico:

- Realizar correctamente la técnica de recuento de reticulocitos.

III. MÉTODO

Azul de Cresil Brillante.

IV. FUNDAMENTO

Los eritrocitos recién liberados por la medula ósea tienen restos de este RNA que es precipitado por el azul de cresil brillante en forma de puntos y filamentos. Formando el complejo RNA-azul de cresil conservando la vitalidad de las células (Coloración Supravital).

V. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS

- Microscopio.
- Láminas portaobjetos.
- Azul de cresil brillante.
- Aceite de inmersión.
- Elementos de bioseguridad y de identificación.
- Jeringas de 5 cc- torniquete.
- Láminas portaobjetos.
- Baño María a 37 °c.

VI. MUESTRA

Sangre venosa con EDTA.

VI. PROCEDIMIENTO

Método Azul de Cresil Brillante:

- Azul de cresil brillante..... 1.0 gr
 - Solución salina al 0.85%..... 99 ml
 - Citrato de sodio..... 0.4 gr
1. Tomar un tubo y agregar partes iguales de sangre bien mezclada y solución de ACB, también pueden ser dos gotas de sangre del paciente por una gota de colorante.
 2. Mezclar varias veces y fuertemente el tubo con la mezcla de sangre-colorante (durante 10 minutos) y se deja en reposo a temperatura ambiente por 30 minutos o en Baño de María por 15 minutos, para asegurar tiempo adecuado para colorear los reticulocitos.
 3. Mezclar la solución y se hacen dos frotis en láminas portaobjetos limpias.
 4. Una se colorea con Wright.
 5. Contar 1000 glóbulos rojos en una de las dos láminas y anotar el número de reticulocitos.
 6. Promediar el número de reticulocitos y el número de reticulocitos se reporta como porcentaje del número total de glóbulos rojos.

CÁLCULOS:

- 1- 1000 glóbulos rojos _____ Número de reticulocitos
100 glóbulos rojos _____ x

Se realiza Cuando el hematocrito es menor de 25%

- 2- Recuento corregido de reticulocitos:

$$\text{RCR} = \frac{\text{Hematocrito del paciente} \times \text{Recuento de reticulocitos}}{\text{-----}}$$

Hematocrito de referencia (Índice Biológico de Referencia (IBR))

El tiempo de maduración de los reticulocitos es de 1 a 3 días promedio 2

3- IPR (Índice de producción de reticulocitos):

$$\text{IPR} = \frac{\text{Cifra corregida de reticulocitos del paciente}}{\text{Tiempo de madurez}}$$

Tabla de relación del hematocrito con el tiempo de maduración.

Se informa o Reporta:

HEMATOCRITO	TIEMPO DE MADURACION
45%	1.0
35%	1.5
25%	2.0
15%	2.5

Reticulocitos corregidos:.....%

IPR.....%

Nota: un IPR mayor a 2.0 indica regeneración medular.

VALORES NORMALES:

LACTANTES: 2 – 6%

NIÑOS: 0.5 – 4%

ADULTOS: 0.2 – 2.0%

Valor Absoluto: 30.000 – 100.000 / mm³

CRITERIOS DE EVALUACIÓN:

Se evaluará la práctica realizada, informe.

PRÁCTICA N° 14 SICKLEMIA

I. INTRODUCCIÓN

La anemia drepanocítica o anemia falciforme es una enfermedad homocigota de la hemoglobina "S", en el cual el Ácido Glutámico del aminoácido en la sexta posición sobre la cadena beta es sustituido por la Valina. La sustitución se realiza en la superficie de la molécula que conlleva al cambio de la carga y por lo tanto de movimiento electroforético.

La HbS es libremente soluble, cuando se encuentra completamente oxigenada, al eliminarla ocurre la polimerización de la Hb anormal formando tactoides rígidos que deforman la célula dándole la forma de hoz o media luna. Existen varios métodos para su determinación:

- Método de metabisulfito de sodio al 2%.
- Método de solubilidad en tubo.
- Test cualitativo de ciclindex.

II. OBJETIVOS

Objetivo General:

- Conocer una variante estructural de la hemoglobina que provoca la deformación de los hematíes y produce una anemia hemolítica conocida como anemia de células falciformes.

Objetivos Específicos:

- Realizar correctamente la técnica de metabisulfito de sodio o sicklemia
- Enumerar otras técnicas que se emplean en el estudio de la hemoglobina "S"

III. MÉTODO

Metabisulfito de Sodio al 2%

IV. FUNDAMENTO

La sangre se mezcla con metabisulfito de sodio al 2%, un agente reductor fuerte que desoxigena la hemoglobina formando células falciformes en presencia de hemoglobina "S".

V. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPO

- Elementos de bioseguridad y de identificación.
- Jeringas de 5 cc. –torniquete.
- Laminas portaobjeto y laminillas cubre-objeto.
- Metabisulfito de sodio al 2%.
- Vaselina o parafina.

VI. MUESTRA

Sangre venosa en EDTA.

VII. PROCEDIMIENTO

Reactivos:

- Metabisulfito de sodio0.2 gr
- Agua destilada.....10 ml

- 1- Poner 4 gotas de metabisulfito de sodio al 2% en un tubo pequeño.
- 2- Añadir 2 gotas de sangre a la solución de metabisulfito de sodio al 2% y mezclar muy bien.
- 3- Cubrir la mezcla con un cubre-objeto.

- 4- Extraer el remanente con una gasa o con un papel de filtro ejerciendo una suave presión sobre el cubre-objeto. Sellar alrededor de la lámina con parafina o vaselina.
- 5- Examinar la preparación para buscar células falciformes inmediatamente, a los 30 minutos, a la hora y a las dos horas.
- 6- El resultado positivo se determina por la presencia de células falciformes dentro de este tiempo, como resultado presuntivo.
- 7- La lectura definitiva se realiza a las 24 horas.

Nota; Debe montarse un control positivo y un control negativo.

CAUSAS DE ERROR:

Falsos negativos:

- 1-Cantidad de HbS pequeña –menor de 7%.
- 2-Deterioro del agente reductor.
- 3-Exceso de muestra.
- 4-Burbujas debajo del cubreobjetos.

Falsos positivos

1. Desecamiento de la lámina.

VIII.TALLER DE SICLEMIA Y RETICULOCITOS

- 1- Investigue en que entidades se elevan los reticulocitos.
- 2- ¿Que prueba específica nos confirma la presencia de Hb”S”?
- 3- Investigue otras hemoglobinas anormales.

PRÁCTICA Nº 15 FROTIS DE SANGRE PERIFÉRICA

I. INTRODUCCIÓN

El reporte del Frotis de Sangre Periférica se realiza en un extendido de sangre teñido con alguno de los colorantes de Romanowsky. Comprende la observación en 100x de glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas.

Para una correcta observación se recomienda que se observe en 100x, si bien en 40x las células blancas podrían diferenciarse, es probable cometer errores de omitir ciertas anomalías morfológicas presentes en las diferentes células.

II. OBJETIVOS

Objetivo General

- Comprender la importancia del frotis de sangre periférico y en especial la relación con el reporte numérico del cuadro hemático.

Objetivos Específicos

- Relacionar los resultados obtenidos con determinadas patologías.
- Informar correctamente el Frotis de Sangre Periférica.

III. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPO

- Portaobjetos.
- Colorante de Wright.
- Cronometro.
- Aceite de inmersión.
- Microscopio en excelente estado.

IV. MUESTRA

Sangre con anticoagulante o punción capilar.

V. PROCEDIMIENTO

1. Realizar la extensión de la sangre en el portaobjeto y dejarlo secar.
2. Colorear con el colorante de Wright, según tiempo estandarizado.
3. Secar al aire libre.
4. Enfocar el microscopio correctamente y colocarlo en 100x
5. Ubicar el objetivo de 100x en el centro de la placa (correspondiente al cuerpo del extendido).
6. Hacer el recuento diferencial de estas 100 células sin importar su grado de madurez y especificando siempre las células diferenciadas, aunque sean inmaduras.

BIBLIOGRAFÍA

- MANASCERO, Aura Rosa. Reporte gráfico del cuadro hemático automatizado relación con el FSP, primera edición, CEJA, Santa fe de Bogotá. 2000.
- Restrepo M, Alberto. Fundamentos de Medicina. Hematología, sexta edición, CIB, Medellín. 2000.
- McKENZIE, Shrllyn B. Hematología clínica, segunda edición, Manual Moderno, México. 2005.
- Ruiz Arguelles Guillermo, Fundamentos de Hematología, cuarta edición editorial panamericana. Bogotá, 2009.
- Quezada Velásquez Norberto, Texto de Hematología clínica, primera edición, editorial fondo editorial comunicacional del Colegio Médico del Perú, año 2017.
- Manascero, Aura Rosa, Atlas de Hematología, primera edición, editorial Pontificia Universidad Javeriana, Santa fe de Bogotá año 2014.
- McKENZIE, Shrllyn B. Hematología clínica, segunda edición, Manual Moderno, México. 2000.



CORPORACIÓN UNIVERSITARIA
RAFAEL NÚÑEZ
PARA QUE TU DESARROLLO CONTINÚE SU MARCHA

Campus Cartagena
Centro Comercial Pasaje de la Moneda
Cra. 8B #8-56
Tel. 6517088 Ext 1202

Campus Barranquilla
Cra 54 #66-54
Tel. (5) 3602197 Ext 1319

www.curn.edu.co

Institución Universitaria | Vigilada Mineducación
Reconocimiento personería jurídica: Resolución 6644 del 5 de junio de 1985 Mineducación.

