



CORPORACIÓN UNIVERSITARIA
RAFAEL NÚÑEZ
PARA QUE TU DESARROLLO CONTINÚE SU MARCHA

GUÍA DE LABORATORIO
DE HEMATOLOGÍA ESPECIAL
IV Semestre

Jorge Luis Gutiérrez Cuesta

Bacteriólogo Especialista en Laboratorio Clínico de
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

José Luís Gutiérrez Cuesta



TABLA DE CONTENIDO

Presentación.....	4
Normas generales de Bioseguridad en el Laboratorio	5
Plan de Trabajo del estudiante.....	6
Materiales para todas las clases.....	7
Práctica N°1: Glosario y control de calidad en el área de hematología.....	8
Práctica N°2: Tiempo de sangría método Ivy.....	15
Práctica N° 3: Tiempo de sangría método de Duke.....	17
Práctica N°4: Prueba del torniquete o fragilidad capilar.....	19
Práctica N° 5: Recuento de plaquetas	22
Práctica N° 6: Adhesividad plaquetaria.....	25
Práctica N° 7: Tiempo de coagulación	28
Práctica N° 8: Tiempo de protrombina.....	30
Práctica N° 9: Tiempo parcial de tromboplastina.....	35
Práctica N° 10: Tiempo parcial de tromboplastina amplificado.....	39
Práctica N° 11: Tiempo parcial de tromboplastina cruzado.....	42
Práctica N° 12: Determinación de fibrinógeno.....	46
Práctica N° 13: Producto de degradación del fibrinógeno y fibrina.....	51
Práctica N° 14: Frotis de sangre periférica	54
Bibliografía	



PRESENTACIÓN

Este trabajo surge como una alternativa para responder a la necesidad de reforzar los conocimientos de los estudiantes en la asignatura de Hematología Especial.

Es así que, la utilidad de este manual de Hematología, está dada no sólo por el interés en la información; sino que también pretende facilitar la comprensión y la solución de problemas habituales en el diagnóstico, tratamiento y prevención de las enfermedades que involucran al sistema hematopoyético.

Por este motivo, se ha elaborado el presente documento, que intenta presentar los conocimientos generales sobre hematología, apuntando particularmente a describir la naturaleza de los procesos de desarrollo y maduración de las series hematopoyéticas, la hemostasia y la fibrinólisis.

El presente manual exhibe una descripción ordenada de los componentes básicos de la sangre referidos al componente celular y los procedimientos de laboratorio que se utilizan actualmente para su estudio con finalidades diagnósticas.

Incluye novedades que se refieren fundamentalmente a las técnicas de laboratorio para el abordaje de la hemostasia y la fibrinólisis, luego estudia las anemias y su fisiopatología y finaliza con el estudio leucocitario que se centra en la morfología, el análisis inmunofenotípico y la citogenética de las leucemias agudas y trastornos mielo y linfoproliferativos crónicos.



NORMAS GENERALES DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO DE HEMATOLOGÍA ESPECIAL

1. El alumno debe ingresar al laboratorio con equipo de seguridad: bata blanca hasta la rodilla y de manga larga, tapabocas, gorro.
2. Para tener derecho a ingresar al laboratorio, el alumno debe tener claro los fundamentos de la práctica a realizar, elementos y muestras biológicas solicitadas para la práctica. - Reporte de la práctica anterior. El laboratorio inicia puntualmente, no se permitirá el ingreso tarde bajo ninguna excusa.
3. En el laboratorio está prohibido el ingreso de: Teléfonos celulares, localizadores, reproductores de música, cámaras o cualquier otro artefacto electrónico (iPod, iPad, Laptops, tablets etc.) que pueda interferir con la atención del estudiante. - Comida y bebidas. - Gorras, mochilas, bolsos u otro accesorio que no sea requerido por el docente. Todas las pertenencias deberá dejarlas en los casilleros asignados.
4. No puede trabajar en el laboratorio si tiene uñas acrílicas y joyería.
5. Las personas con cabello largo deben recogerlo con una cola o gancho y usar gorro.
6. El alumno es responsable del material que recibe, manteniéndolo limpio y en perfecto estado a lo largo de cada práctica. Deberá realizar una requisición del material antes de iniciar la práctica y al finalizar será revisado por las auxiliares a cargo.
7. En caso que el estudiante dañe parcial o totalmente un material, deberá comprometerse a reponer el material y debe quedar constancia ante coordinación del CEID. Los alumnos serán responsables de dejar los reactivos cerrados y sin contaminar por otros, las mesas limpias y en orden, lo mismo que el equipo que sea utilizado durante la práctica.



8. Es necesario que cualquier persona que se encuentre dentro de las instalaciones del laboratorio se comporte de forma adecuada, cumpliendo con el reglamento y las normas de seguridad requeridas.

PLAN DE TRABAJO DEL ESTUDIANTE

1. Previamente a la práctica, lea los procedimientos que se van a realizar y prepare todos los aspectos teóricos correspondientes, y los materiales y/o muestras necesarias para la ejecución de la misma.
2. Anote cuidadosamente sus resultados: el examen de la práctica, no solo se limitará a la información proporcionada por el manual o el docente sino también de sus propias observaciones, investigación y deducciones.
3. Asegúrese que la superficie del mesón esté limpia y seca antes de comenzar la práctica.
4. En la mesa de trabajo solo debe estar el material necesario para la realización de la práctica. Debe estar limpio y ordenado.
5. Asegúrese de marcar adecuadamente las láminas de los frotis de sangre periférica.
6. Practique varias veces el procedimiento y en caso de dudas preguntar a su docente.
7. Anote y/o dibuje todo los fenómenos observados y los resultados obtenidos para una mejor realización del informe de laboratorio.
8. 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.
9. Siempre utilice todas las normas de bioseguridad.



MATERIALES PARA TODAS LAS CLASES

1. marcador cristalográfico.
2. Guantes desechables.
3. Mascarilla o tapabocas.
4. Gafas de protección.
5. Toalla pequeña
6. Muestra solicitada.
7. Papel absorbente
8. Guías de laboratorio previamente estudiadas.
9. Conclusión personal y desarrollo de talleres.

INDISPENSABLES EN TODOS LOS LABORATORIOS



PRÁCTICA No.1. GLOSARIO Y CONTROL DE CALIDAD EN EL ÁREA DE HEMATOLOGÍA ESPECIAL.

I. INTRODUCCIÓN

La Hematología es un área de la medicina que se encarga del estudio de los elementos formes de la sangre. La eritropoyesis describe la formación de los hematíes y su capacidad para el transporte gaseoso; la leucopoyesis se define como la respuesta efectora de leucocitos frente a diferentes antígenos; y por último el proceso de la hemostasia, la cual es el proceso de formación de una barrera contra la pérdida de sangre, en el que interactúan componentes importantes como las plaquetas y los factores de coagulación.

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Conocer el glosario utilizado durante el desarrollo del programa de Hematología Especial y el Control de Calidad establecido para el buen desarrollo de todas las técnicas implementadas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Investigar los términos que serán utilizados durante el desarrollo del programa para su posterior análisis y aplicación.
- Analizar el proceso de Control de Calidad utilizado en el Área de Hematología Especial y fijar parámetros para su aplicación.
- Incentivar al estudiante a que aplique los conocimientos adquiridos en todas las áreas del saber.



PALABRAS CLAVES

Activación	Aplasia	Equimosis	Hiperplasia
Adhesividad plaquetaria	Azurófilo	Epistaxis	Isquemia
			Leucemia
Agregación primaria	Cianosis	Factores de la coagulación.	Mielodisplásico
Agregación secundaria.	Coagulación	Gingivorragia	Neoplasia
		Hematoma	
Anemia	Diátesis hemorrágica.	Hematuria	Oncogén
Anisocitosis	Displasia	Hemartrosis	Petequias
Anticoagulante	Endomitosis	Hemostasia	Púrpura

CONTROL DE CALIDAD EN EL ÁREA DE HEMATOLOGÍA ESPECIAL

Área de trabajo.

Dentro de los principales criterios que deben establecerse en el laboratorio clínico, se encuentra, un correcto control de calidad, con el fin de obtener resultados reproducibles y minimizar en lo posible las fuentes de error.

Cada laboratorio debe realizar un control de calidad externo e interno. En el control de calidad externo se deben realizar periódicamente pruebas con valores conocidos remitidos de laboratorios de referencia, este control de calidad externo nos valida el control de calidad interno.

El control de calidad interno valora diariamente todos los resultados obtenidos en el laboratorio.



Se debe contar con un área de trabajo limpia, tranquila, bien iluminada, bien organizada, con una temperatura que oscile entre los 20 y 28 grados centígrados, ya que temperaturas mayores puede afectar equipos y reactivos.

El personal que allí labora, debe ser idóneo y competente, que conozca todos los requerimientos mínimos para llevar a cabo un correcto control de calidad y por consiguiente la realización de exámenes confiables.

III. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

Son herramientas fundamentales para el buen desarrollo de las pruebas de coagulación. Dentro de estos tenemos:

a- Centrifuga	f- Cronómetros
b- Nevera	g- Horno para esterilización
c- Baño serológico	h- Material de vidrio ***
d- Gradillas	i- Balanza
e-Fuente de Luz	j- Pipetas automáticas.

*** El Material de vidrio debe ser exclusivo para los estudios de coagulación; los tubos y pipetas se deben recoger paulatinamente dentro de un recipiente de agua para evitar el resecamiento del plasma, sangre y reactivos. Debe hacerse uso de churruscos y enjuagar con agua de chorro. Este material debe sumergirse en una solución de bicromato de potasio durante treinta minutos y enjuagar posteriormente con abundante agua de chorro, por último enjuagar con agua destilada.

El secado es recomendable hacerlo en horno con el fin de lograr esterilidad del material.



El material de plástico para uso de pruebas, es poco recomendable por ser mal conductor del calor, pero si es muy bueno para conservar las plaquetas y los factores de la coagulación. El material siliconado contiene una resina aislante del vidrio, tiene gran estabilidad y resistencia al calor.

El uso de detergentes debe evitarse, ya que mínimos residuos de detergente afectan enormemente las pruebas de coagulación.

Preparación de Bicromato de Potasio:

Solución de Bicromato.....	1.000 ml.
Bicromato de Potasio.....	100 gr.
H ₂ SO ₄	250 ml.
Agua destilada	750 ml

IV. MUESTRA.

- **Muestra:** Las muestras de sangre se pueden obtener por punción venosa o por un catéter.
- **Anticoagulante:** Se debe usar citrato sódico 3.2 % (0.109M) o 3.8%(0.129M). Una proporción exacta de nueve (9) partes de sangre por una (1) parte de citrato es lo más adecuado (el Oxalato de Sodio, EDTA y Heparina no son adecuados).

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA. RECOMENDACIONES GENERALES:

- Leer completamente la orden realizada por el médico, antes de la toma de muestra.



- Preparar el material necesario para la toma de la muestra: Tubos con el anticoagulante indicado, algodón, alcohol, jeringa, lápiz de cera, gradilla, cronómetro.
- Identificar correctamente al paciente, corroborando nombres y apellidos completos, número de habitación y cama en caso de que esté hospitalizado.
- Preguntar edad, impresión diagnóstica si se tiene acceso a ella, y si el paciente está recibiendo algún tipo de medicamento. Es importante saber qué tipo de anticoagulante está recibiendo y en qué lapso de tiempo.
- No deben tomarse muestras de un brazo en el cual hayan conectados líquidos o algún tipo de transfusión.
- Una vez seleccionado el brazo para la punción, realizar la asepsia adecuada para la punción, utilizando alcohol al 70%. La sangre se debe mezclar suavemente con el anticoagulante inmediatamente después de tomar la muestra. Centrifugar de 10 a 15 minutos aproximadamente a 2000 rpm. Separar el plasma con una pipeta de plástico y almacenar en un tubo de plástico sin dañar las células rojas.
- Tapar las muestras para evitar cambios de pH ya que pueden afectar los resultados de la prueba.
- Los tubos deben estar correctamente rotulados con nombres y apellidos completos, fecha y hora de recolección.
- Las muestras turbias, ictéricas, lipémicas o hemolíticas pueden dar resultados erróneos.
- Las muestras que presenten micro coágulos deben ser descartadas y solicitar nueva muestra.
- Las muestras mantenidas entre 22 – 24 °C se deben determinar durante las 2 horas siguientes. De 2 – 4°C si se va a procesar dentro de las 4 horas siguientes. Para períodos de tiempo más prolongado las muestras se deben congelar a – 20°C durante dos semanas o a –70°C durante 6 meses. Descongelar las



muestras rápidamente a 37°C, mezclar suavemente para asegurar la homogeneidad y realizar la prueba inmediatamente. No se debe recongelar.

- Si las muestras necesitan ser transportadas deben hacerse lo más rápido posible en un recipiente con hielo. Utilizar preferiblemente nevera de icopor con gel congelado.

Reactivos y Agua.

- Los reactivos utilizados deben ser de buena calidad para garantizar óptimos resultados.
- Observar fecha de caducidad antes de reconstituir y estabilidad del reactivo después de reconstituido ya que este va perdiendo estabilidad después de reconstituido.
- Seguir indicaciones de la casa comercial y establecer un control de calidad interno.
- El agua utilizada para reconstituir reactivos en Coagulación, debe ser completamente destilada, desionizada, con un pH entre 6.5 - 7.0 y completamente estéril.

V. TALLER

- 1- De acuerdo a los términos vistos en clase, investigue entidades clínicas en donde ellos se encuentren alterados.
- 2- Realice un cuadro en donde exponga los equipos y materiales utilizados en el área de Hematología Especial, utilidad y tipo de control a realizar.

EVALUACIÓN DE LA HEMOSTASIA PRIMARIA Y FUNCIONABILIDAD PLAQUETARIA.

I. INTRODUCCIÓN.



La sangre normalmente circula dentro de un sistema cerrado de vasos, una lesión traumática, secciona vasos sanguíneos y esto resulta en hemorragia. El proceso de formación de la barrera contra la pérdida de sangre y para la limitación en el sitio lesionado es la Hemostasia; este término procede de las palabras griegas ***haima*** que significa sangre y ***stasis*** que significa detener. La masa de la barrera se conoce como tapón hemostático, coágulo sanguíneo o trombo. La hemostasia se produce en etapas llamadas hemostasia primaria, hemostasia secundaria y fibrinólisis.

Durante la hemostasia primaria, las plaquetas interactúan con ellas mismas y con los vasos lesionados, como resultado de esta interacción se forma un conjunto de plaquetas y en este punto el tapón hemostático se conoce como tapón hemostático primario, la generación de fibrina constituye la etapa de hemostasia secundaria y se denomina tapón hemostático secundario. Después que la herida se ha reparado, componentes adicionales del sistema hemostático desdoblan y retiran el coágulo en la etapa final de fibrinólisis.

Técnicas utilizadas:

- Tiempo de sangría: Método de Ivy y Método de Duke.
- Prueba del torniquete o Fragilidad capilar.
- Recuento de plaquetas: Método directo e indirecto.

II. OBJETIVO

OBJETIVO GENERAL:

Lograr que el estudiante interprete y realice correctamente las pruebas que valoran la funcionalidad plaquetaria, y haga la interpretación clínica de acuerdo a los resultados obtenidos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Identificar cada uno de los métodos utilizados en la valoración de la Hemostasia Primaria.



- Adquirir destreza en la realización del tiempo de sangría de acuerdo al método utilizado.
- Realizar correctamente la prueba de fragilidad capilar e interpretar los resultados obtenidos.
- Elaborar el recuento de plaquetas por los métodos directo e indirecto e interpretar los resultados obtenidos

PRÁCTICA N°2. TIEMPO DE SANGRÍA.

I. INTRODUCCIÓN

El tiempo de sangría es una prueba que ayuda a valorar la cantidad y calidad de plaquetas e integridad vascular ya que mide todos los procesos específicos de la función plaquetaria, mide in vivo la adhesión, agregación y liberación de plaqueta. Es una de las pruebas de rutina utilizadas para determinar la actividad de las plaquetas.

Interpretación Clínica:

Una prueba de sangría alargada puede indicar defectos de la pared vascular y anomalías plaquetarias cualitativas y cuantitativas como es el caso de las enfermedades de Bernard Soulier, enfermedad de von Willebrand, Atrombia Esencial, Trombocitopenia, Trombocitosis maligna, Tromboastenia, Enfermedad de Storage Pool. La ingestión de aspirina prolonga el tiempo de sangría en muchos individuos. Se encuentran valores normales en los trastornos plasmáticos de la coagulación

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Lograr que el estudiante interprete y realice correctamente las pruebas que valoran la funcionabilidad plaquetaria, y haga la interpretación clínica de acuerdo a los resultados obtenidos.



OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Identificar cada uno de los métodos utilizados en la valoración de la Hemostasia Primaria.
- Adquirir destreza en la realización del tiempo de sangría de acuerdo al método utilizado.
- Realizar correctamente la prueba de fragilidad capilar e interpretar los resultados obtenidos.
- Elaborar el recuento de plaquetas por los métodos directo e indirecto e interpretar los resultados obtenidos

III. MÉTODO DE IVY MODIFICADO

IV. FUNDAMENTO:

Es el tiempo de hemorragia que transcurre al hacer una incisión estandarizada en el antebrazo a una presión constante de 40 mm de mercurio.

V. MATERIALES:

- Tensiómetro
- Papel filtro whatman No 1.
- Lanceta Simplate R /(Surgi Cutt)
- Algodón y Alcohol al 70%
- Gasa y tela adhesiva
- Cronómetro

VI. MUESTRA: muestra de sangre capilar, plasma citratado

VII. PROCEDIMIENTO

- 1- Coloque al paciente cómodamente con el brazo en posición adecuada. El sitio preferido para el tiempo de sangría es el área muscular del antebrazo, aproximadamente 5 cm. por debajo del pliegue del codo. No se debe realizar la incisión sobre superficie venosa, equimosis, cicatrices, área de mucho vello.



- 2- Coloque el mango del tensiómetro por encima del pliegue del codo, limpie la zona de punción con algodón y alcohol al 70% y deje secar por 30 segundos al aire.
- 3- Saque la lanceta- (Simplat Surge-Cutt) del empaque y rompa el dispositivo de seguridad, no toque la ranura de la salida de la cuchilla ni presione el disparador (el Simplat/ Surgi Cutt), es un dispositivo estéril y desechable para hacer una incisión uniforme en la determinación del tiempo de sangría.
- 4- Insufle el tensiómetro a 40 mm Hg durante la prueba (entre el tiempo de la insuflada del tensiómetro y la incisión no deber pasar de 1 minuto).
- 5- Coloque la lanceta en el sitio de la incisión sin hacer presión excesiva, dispare la lanceta y simultáneamente ponga en marcha el cronómetro. Retire el dispositivo inmediatamente.
- 6- Cada 30 segundos absorba la sangre con papel filtro sin tocar el borde de la incisión para no alterar el tapón plaquetario (si la gota es muy grande absorba cada 15 segundos). Inspeccione periódicamente el tensiómetro para asegurar que la presión se mantenga constante.
- 7- Verifique que la sangre deje de manchar el papel filtro y anotar el tiempo que marque el cronómetro.
- 8- Retire el tensiómetro y limpie el brazo cuidadosamente con agua, no utilice alcohol porque aumenta la tendencia hemorrágica.
- 9- Cubra la incisión con una banda protectora. Dejarla mínimo 24 horas.

Valores de Referencia: De 2 a 9 minutos.

PRÁCTICA N°3 TIEMPO DE SANGRÍA.

I. INTRODUCCIÓN

Es una prueba que ayuda a valorar la cantidad y calidad de plaquetas e integridad vascular ya que mide todos los procesos específicos de la función plaquetaria, mide



in vivo la adhesión, agregación y liberación de plaqueta. Es una de las pruebas de rutina utilizadas para determinar la actividad de las plaquetas.

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Lograr que el estudiante interprete y realice correctamente las pruebas que valoran la funcionabilidad plaquetaria, y haga la interpretación clínica de acuerdo a los resultados obtenidos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Adquirir destreza en la realización del tiempo de sangría de acuerdo al método utilizado.
- Realizar correctamente la prueba e interpretar los resultados obtenidos.

III. MÉTODO DE DUKE

IV. FUNDAMENTO:

Es el tiempo que transcurre desde el momento en que se produce una hemorragia procedente de una incisión realizada en el lóbulo de la oreja hasta que cesa la salida del flujo sanguíneo.

Importancia:

Tiene la misma importancia que el método de Ivy, pero se considera una prueba inexacta por la falta de estandarización de la prueba.

Interpretación clínica:

Igual a método de Ivy.

V. MATERIALES:



- Cronómetro
- Lancetas descartables
- Portaobjetos
- Algodón y alcohol al 70%

VI. PROCEDIMIENTO:

- 1- Se limpia el lóbulo de la oreja retirando cabello y aretes.
- 2- Se realiza la asepsia con algodón y alcohol al 70% y se deja secar.
- 3- Se coloca el portaobjeto detrás del lóbulo de la oreja y se mantiene fuertemente en su sitio, lo que proporciona estabilidad para hacer la punción.
- 4- Se perfora el lóbulo de la oreja mediante un golpe firme con la lanceta que penetre hasta el portaobjeto y simultáneamente poner en marcha el cronómetro.
- 5- Permitir que la sangre fluya libremente sin hacer presión y limpiar cada 30 segundos con el papel filtro. Cuando la sangre deje de salir, detener el cronómetro y observar el tiempo gastado.

Valores de Referencia: De 1 a 3 minutos.

VIII. TALLER:

- 1- Analice las técnicas vistas y describa las ventajas y desventajas en la realización de la prueba.
- 2- En qué casos esta prueba puede dar prolongada.
- 3- Investigue qué otras pruebas de laboratorio son útiles para evaluar función plaquetaria.
- 4- Entregue por escrito el informe de laboratorio.

PRÁCTICA N° 4. PRUEBA DEL TORNIQUETE O FRAGILIDAD CAPILAR- PRUEBA DE RUMPE-LEE.



I. INTRODUCCIÓN.

Al ejercer una presión constante de 80 mm Hg en el antebrazo, se produce una obstrucción parcial del flujo sanguíneo venoso, ocasionando un aumento en la presión intracapilar con posible extravasación sanguínea formando petequias.

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Lograr que el estudiante interprete y realice correctamente las pruebas que valoran la funcionabilidad plaquetaria, y haga la interpretación clínica de acuerdo a los resultados obtenidos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Adquirir destreza en la realización de la prueba de fragilidad capilar.
- Interpretar correctamente los resultados obtenidos y su aplicabilidad clínica.

III. MATERIALES

- Tensiómetro.
- Cronómetro.

IV. PROCEDIMIENTO:

1. Localice la zona del antebrazo carente de venas o capilares, encierre en un círculo aquellos sitios donde haya lunares, manchas o petequias.
2. Coloque el tensiómetro a 80 mmHg por 5 minutos, poner en marcha el cronómetro.
3. Pasado el tiempo detener el cronómetro y esperar 10 minutos para hacer la lectura de la reacción.

Interpretación:



La prueba se valora desde Normal hasta cuatro cruces, de la siguiente manera:

NORMAL	Hasta 10 petequias
+	De 10 – 15 petequias o algunos petequias en el antebrazo
++	De 20 – 25 petequias o abundantes petequias en el antebrazo y en el dorso de la mano
+++	De 25 – 30 petequias o múltiples petequias en el antebrazo y en el dorso de la mano
++++	Más de 30 petequias o acumulo de petequias en el antebrazo y en el dorso de la mano.

NOTA: La lectura debe incluir el antebrazo (por debajo de la zona donde se localizó el tensiómetro) mano y dedos.

Interpretación clínica:

El número y tamaño de petequias son aproximadamente proporcionales a la tendencia hemorrágica ya sea por causas cualitativas o cuantitativas de las plaquetas. El Test puede ser fuertemente positivo cuando hay un aumento de la fragilidad capilar aunque las plaquetas estén normales.

V. Taller:

- 1- Analice la técnica vista y describa las ventajas y desventajas en la realización de la prueba.
- 2- Interprete los resultados obtenidos en su prueba y haga la correlación clínica.
- 3- Entregue por escrito el informe de laboratorio.



PRÁCTICA N° 5. RECuento DE PLAQUETAS

I. INTRODUCCIÓN.

El segundo componente principal del sistema hemostásico son las plaquetas sanguíneas. La función desempeñada por las plaquetas en la hemostasia fue establecida por primera vez por Bizzozero en 1882. Notó su adhesión y su participación en la formación de un trombo en los vasos mesentéricos de conejos y cobayos. Las plaquetas, según se ven en un frotis de sangre periférica teñida por Romanowsky, aparecen como estructuras azulosas pequeñas, circulan como células anucleadas de forma discoide, con un tamaño aproximado de 2 a 3 micras.

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Colorear las plaquetas con tinciones supravitales y visualizar como se aglutinan y se adhieren a una superficie extraña como el vidrio, el reactivo permite su visualización como estructuras o cuerpos refringentes.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Adquirir destreza en la realización del recuento de plaquetas.
- Interpretar correctamente los resultados obtenidos y su aplicabilidad clínica.

III. MATERIALES Y REACTIVOS

- Equipo para toma de muestra.
- Microscopio.
- Pipetas de glóbulos rojos.
- Cámara húmeda (caja de petri más papel de filtro).



- Cámara de Neubauer.
- EDTA al 3%.
- REES-ECKER: citrato de sodio al 3.8%, formaldehído al 40% y azul de cresil brillante.

IV. MUESTRA. Sangre con EDTA.

V. PROCEDIMIENTO:

- 1- Preparar material y equipo para la toma de muestra.
- 2- Tomar la muestra de sangre, agregarla al tubo con EDTA y mezclar suavemente.
- 3- Tomar dos pipetas de glóbulos rojos y llenar con sangre hasta la marca 0.5 y luego diluir con reactivo de Rees-ecker hasta la marca 101 (Dilución 1:200)
- 4- Mezclar la pipeta durante 5 segundos.
- 5- Descartar 8 a 10 gotas para evitar hacer el recuento solo en el diluyente.
- 6- Llenar cada lado de la cámara con pipetas diferentes.
- 7- Colocar la cámara de Neubauer en cámara húmeda (Colocar en la tapa de una caja de petri un pedazo de papel filtro, o papel facial húmedo), dejar durante 10 minutos en reposo.
- 8- Observar la distribución de los Glóbulos Rojos con objetivo de 10 X (Glóbulos Rojos distribuidos en todo el cuadrante respectivo).
- 9- Efectuar la lectura con objetivo de 40 X en los 25 cuadrillos correspondientes a los cuatro cuadrantes de los extremos y cuadrante central de Glóbulos Rojos. Las plaquetas se observan como corpúsculos refringentes de color verdoso.

Resultados: El valor obtenido se multiplica por 2000.

Valores de Referencia: De 150.000 a 450.000 /mm³

Importancia Clínica:

- Recuentos por debajo de 100.000 plaquetas/mm³, indica alguna anomalía en el proceso de hematopoyesis como el caso de las Aplasias Medulares,



leucemias, Púrpura Trombocitopénica, dengue grave, entre otras.

- Recuentos por debajo de 20.000 plaquetas/mm³ puede deberse a una destrucción por anticuerpos, CID, leucemias agudas, entre otras.
- Valores aumentados pueden encontrarse en Trombocitosis, en Policitemia Vera, después de hemorragias, en la fase inicial de LMC, en Síndromes Mieloproliferativos Crónicos, entre otros.

Montaje en Tubo:

En un tubo de vidrio colocar 5 microlitros de la muestra más 995 microlitros del reactivo de Rees-ecker (Dilución 1/200). Realizar el montaje en cámara como se describió en la técnica anterior.

2.3.1. Método Indirecto o Método de Fonio

Materiales:

- Colorante de Wright.
- Láminas portaobjeto.

Procedimiento:

- 1- Realizar extendidos por duplicado de la muestra a analizar, dejar secar y colorear con colorante de Wright. La muestra debe mezclarse correctamente procurando extendidos de buena calidad.
- 2- Enfocar con objetivo de inmersión (100 X) en el extremo del extendido, donde los Glóbulos Rojos estén separados.
- 3- Realizar el conteo tomando 10 campos microscópicos, sacar el promedio y multiplicar por 21000 (constante experimental).
- 4- Debe realizarse la lectura de ambas placas para tener un valor aproximado de plaquetas.

Resultados:



Recuento normal:	Se observan entre 7 – 19 plaquetas por campo Aproximadamente.
Recuentos bajos:	Se observan menos de 7 plaquetas por campo Aproximadamente.
Recuentos altos:	Se observan más de 25 plaquetas por campo Aproximadamente.

VI. TALLER:

- 1- Describa las características que debe poseer un frotis de sangre periférica para poder realizar conteo de plaquetas.
- 2- Haga un cuadro comparativo entre el método directo e indirecto para el conteo de plaquetas.
- 3- Realice el conteo de plaquetas en los frotis realizados en el laboratorio y haga su reporte.

PRÁCTICA Nº 6. ADHESIVIDAD PLAQUETARIA

I. INTRODUCCIÓN.

Utilizando la técnica de Tiempo de sangría, se comprobará la capacidad que tienen las plaquetas para adherirse a una superficie extraña, por medio de recuentos plaquetarios a intervalos de tiempo.

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL



Lograr que el estudiante interprete y realice correctamente las pruebas que valoran la funcionabilidad plaquetaria, y haga la interpretación clínica de acuerdo a los resultados obtenidos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Evidenciar la capacidad que tienen las plaquetas para adherirse por medio de técnicas sencillas.
- Hallar el porcentaje de adhesividad plaquetaria.

II. FUNDAMENTO:

Después de realizar una incisión estandarizada en el antebrazo a una presión constante de 40 mmHg, se evidenciará la capacidad que tienen las plaquetas para adherirse al endotelio mediante recuentos plaquetarios los cuales disminuirán en la medida en que las plaquetas se adhieran al endotelio lesionado.

III. MATERIALES Y REACTIVOS

- Tensiómetro. - Papel filtro.
- Cronómetro. – Microscopio.
- Pipeta de glóbulos rojos. - Cámara húmeda.
- Lanceta Simplate I. - Cámara de Neubauer.
- Láminas portaobjeto.
- Líquido de Rees-Ecker.
- EDTA.
- Colorante de Wright (para método indirecto).

IV. MUESTRA. Sangre venosa con EDTA.

V. PROCEDIMIENTO:



- 1- Tomar una muestra de sangre venosa para recuento de plaquetas. Esto corresponde al conteo número 1: R1.
- 2- Preparar el material para la realización del tiempo de sangría, preferiblemente por el método de Ivy.
- 3- Pasado un minuto de la incisión llenar la pipeta de Glóbulos Rojos hasta la marca 0.5 y llenar con diluyente de Rees-ecker hasta la marca 101, esto corresponde al conteo número 2: R2; dejar pasar otro minuto y tomar otra muestra para el mismo procedimiento, esto corresponde al conteo número 3: R3 (puede tomar las muestras para la técnica en tubo descrita anteriormente).
- 4- Agitar las pipetas por 5 minutos y luego montar las cámaras para realizar el conteo.
- 5- Anotar los resultados y realizar los cálculos de la siguiente manera:

% de Adhesividad: $(R2 + R3)/R2$

$$R1 - \frac{\quad}{R1} \times 100$$

Valores de Referencia: De 32 a 72 %

Importancia de la Prueba:

Esta prueba se utiliza para determinar la adherencia de las plaquetas a un material extraño como puede ser la superficie de un vaso lesionado.

Importancia Clínica:

Si el recuento no disminuye en forma considerable existe una alteración en la adhesividad de las plaquetas. En la enfermedad de Bernard Soulier, Von Willebrand, Trombastenia de Glazzman Nagelly, entre otras.

Esta prueba no es utilizada de rutina, se necesita buena estandarización del tiempo de sangría para su validez diagnóstica.

EVALUACIÓN DE LA HEMOSTASIA SECUNDARIA



I. INTRODUCCIÓN

La hemostasia secundaria pone de manifiesto la interacción de los vasos sanguíneos con los factores de la coagulación y plaquetas para formar un coágulo estable de fibrina.

II. OBJETIVO

OBJETIVO GENERAL.

Estudiar las pruebas que miden la hemostasia secundaria, evaluando la vía extrínseca e intrínseca de la coagulación con todos los factores que en ella actúan.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el tiempo de coagulación de una muestra de sangre venosa.
- Utilizar plasma recalcificado para evaluar el tiempo de coagulación.
- Evaluar la vía extrínseca de la coagulación mediante la prueba de Tiempo de Protrombina (TP).
- Evaluar la vía intrínseca de la coagulación mediante la prueba del Tiempo Parcial de Tromboplastina (PTT).
- Conocer las técnicas existentes para dosificación de factores de la coagulación.
- Realizar análisis de datos y su interpretación clínica.

PRÁCTICA 7. TIEMPO DE COAGULACIÓN.

I. INTRODUCCIÓN

La hemostasia secundaria pone de manifiesto la interacción de los vasos sanguíneos con los factores de la coagulación y plaquetas para formar un coágulo estable de fibrina.

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL.



Estudiar las pruebas que miden la hemostasia secundaria, evaluando la vía extrínseca e intrínseca de la coagulación con todos los factores que en ella actúan.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el tiempo de coagulación de una muestra de sangre venosa.
- Utilizar plasma recalcificado para evaluar el tiempo de coagulación.

III. FUNDAMENTO

La sangre formará un coágulo cuando se extrae del sistema circulatorio y se pone en contacto con superficies extrañas como el vidrio sometida a una temperatura de 37°C.

IV. MATERIALES Y EQUIPOS

- Equipo para toma de muestras.
- Tubos de ensayo de 12x75 o 13x100.
- Baño María a 37°C.
- Cronómetro.

V. MUESTRA: Plasma citratado.

VI. PROCEDIMIENTO:

1. Preparar el material para la prueba, debe estar limpio y seco.
2. Marcar los tubos 1 y 2, con identificación del paciente y fecha.
3. Extraer 3 ml. de sangre al paciente y poner inmediatamente en marcha el cronómetro en cuanto salga la primera gota de sangre.
4. Adicionar 1 ml. de sangre en cada uno de los tubos marcados anteriormente y colocarlos en el Baño María a 37°C por 5 minutos.
5. Pasados los 5 minutos inspeccionar el tubo N° inclinándolo suavemente cada 30 segundos hasta que pueda invertirse sin que fluya la sangre por las paredes del tubo.



6. Marcar el tiempo que demora este tubo en coagular.
7. En los siguientes 30 segundos inspeccionar de igual manera el segundo tubo y marcar el tiempo que demora en coagularse. (Este corresponde al valor real).

Valores de referencia: De 8 a 15 minutos a 37°C.

Importancia clínica:

Si el tiempo de coagulación es mayor de 15 minutos se debe recomendar un PTT y un PTT expandido, ya que esto denota una deficiencia de la vía intrínseca de la coagulación, como es el caso de las Hemofilias, o una terapia con anticoagulantes circulantes como la Heparina y anticoagulantes orales como los cumarínicos.

Nota: esta prueba es útil en laboratorios pequeños y carentes de equipos y otras pruebas más avanzadas.

-Es una prueba poco sensible pues solo detecta las deficiencias graves de los factores de la coagulación.

VII. TALLER:

- 1- ¿Qué factores pueden afectar la realización de la prueba?.
- 2- ¿Qué otras pruebas de laboratorio pueden valorar la hemostasia secundaria?.
- 3- Realice el reporte del laboratorio y haga su interpretación clínica.

PRÁCTICA N° 8 TIEMPO DE PROTROMBINA (TP) O TIEMPO DE PROTROMBINA DE QUICK.

I. INTRODUCCIÓN

La hemostasia secundaria pone de manifiesto la interacción de los vasos sanguíneos con los factores de la coagulación y plaquetas para formar un coágulo estable de fibrina.



II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL.

Estudiar las pruebas que miden la hemostasia secundaria, evaluando la vía extrínseca de la coagulación con todos los factores que en ella actúan.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la vía extrínseca de la coagulación mediante la prueba de Tiempo de Protrombina (TP).
- Determinar la aplicabilidad clínica de la prueba.

III. FUNDAMENTO:

Este ensayo se basa en el tiempo de coagulación de un plasma después de adicionar una fuente de factor tisular (Tromboplastina) y calcio. La recalcificación del plasma en la presencia del factor tisular genera activación del factor Xa con la consecuente formación de trombina y por último un coágulo de fibrina.

IV. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS:

- Tubos de plástico.
- Tubos de vidrio de 12x75.
- Pipeta automática de 100 y 200 lambdas.
- Citrato de sodio al 3.8%
- Tromboplastina completa más calcio.
- Control normal y anormal.
- Baño María a 37°C.
- Cronómetro.
- Analizador automático.

V. MUESTRA. Plasma citratado.



Toma de Muestras:

- Usar solamente tubos de plástico o de vidrio siliconizados y Citrato de Sodio al 3.8% como anticoagulante (el oxalato de sodio, la heparina, el EDTA no son apropiados).
- Obtener sangre venosa y mezclar inmediatamente nueve (9) partes de sangre con una (1) parte de citrato. Evitar la formación de espuma en la muestra.
- Centrifugar la muestra de 10 a 15 minutos a 1.500 rpm, tomar el plasma con una pipeta de plástico y almacenar en un tubo de plástico. Tapar las muestras para evitar los cambios de pH ya que pueden afectar los resultados de la prueba.
- Las muestras turbias, ictéricas, lipémicas o bemozadas pueden dar resultados erróneos.
- Las muestras mantenidas entre 22-24°C se deben determinar dentro de las 2 horas siguientes.
- El plasma almacenado de 2 a 8°C puede sufrir una activación por el frío lo que conlleva a una reducción significativa del TP.
- Para períodos de tiempo más largo las muestras se deben congelar a -20°C durante 2 semanas o a -70°C durante 6 meses.
- Descongelar las muestras rápidamente a 37°C, mezclar suavemente y realizar la prueba inmediatamente. No se debe recongelar.

VI. PROCEDIMIENTO – Método Manual:

1. Realizar por duplicado las muestras y los controles.
2. Precalear el reactivo a 37°C antes de usar.
3. Pipetear en dos tubos.

	Paciente	Control
Plasma del paciente	0.1 ml	-



Control	-	0.1 ml
Incubar 1 a 3 minutos a 37°C (observe el inserto del reactivo utilizado)		
Reactivo precalentado	0.2 ml	0.2 ml
Activar el cronómetro con la adición del reactivo. Anotar el tiempo necesario para la formación del coágulo.		

Resultados:

Calcular la media de la determinación del PT por duplicado en cada plasma y redondear a décima de segundos.

El resultado puede expresarse en segundos, reportando su INR y en % del normal (% de Quick).

Cada laboratorio debe establecer su valor normal específico en segundos (Pool de plasmas normales de individuos sanos).

Valores de referencia:

Debería esperarse para un plasma control normal un rango entre 10 – 14 segundos. El tiempo de coagulación dependerá del valor del ISI asignado a cada laboratorio. Cada laboratorio debe establecer sus valores de referencia.

Determinación del INR (Relación Internacional Normalizada):

Para ampliar los efectos terapéuticos deseados y minimizar el sangrado, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha recomendado un procedimiento para estandarizar la prueba y el tratamiento. Este procedimiento se basa en la Relación Internacional Normalizada (INR) el cual se calcula usando la proporción del PT del paciente sobre el PT del pool de plasma normal de acuerdo a la siguiente relación:



$$\text{INR} = \frac{\text{TP del paciente}}{\text{TP del control}}^{\text{ISI}}$$

El ISI (Índice de Sensibilidad Internacional) es una medida de sensibilidad de la Tromboplastina a los factores de coagulación. Los valores ISI se asignan por una comparación con un material de referencia de la Tromboplastina primaria (OMS). Los reactivos de alta sensibilidad tienen bajos valores de ISI.

Porcentaje del Normal (% de Quick):

Para el reporte de este porcentaje, se deben preparar diluciones del Pool de plasmas por duplicado con Solución Salina 0.85% y trazar una curva de calibración a partir de la cual se interpolan los valores de las muestras

Esquema de las diluciones:

Pool de plasmas	Sin diluir	1+1	1+3	1+7	1+15	1+30
% del normal	100%	50%	25%	12.5%	6.25%	3.2%

El coagulómetro óptico calcula e imprime los tres resultados para cada paciente de forma automática.

Importancia Clínica:

Un tiempo elevado de TP indica desórdenes adquiridos o congénitos que afectan los factores de la coagulación I, II, V, VII y X, o en presencia de anticoagulantes



orales tipo cumarínicos, también está prolongado en pacientes con problemas hepáticos y fibrinolisis.

El PT está acortado en CID (Coagulación Intravascular Diseminada) y en pacientes trombóticos.

VII. Taller:

- 1- De acuerdo a la experiencia realizada describa la importancia que tiene la determinación de la técnica de TP.
- 2-Cuál es la tromboplastina ideal para realizar la técnica y por qué.
- 3- En qué casos se debe determinar el INR.
- 4- Cómo prepara un Pool normal para la técnica de TP.
- 5- Qué fuentes de error pueden incurrir en la realización de la técnica de TP.
- 6- De acuerdo a los datos obtenidos, haga un reporte por escrito y analice sus resultados.
- 7- En qué tipo de terapia anticoagulante se realiza prueba de TP.

PRÁCTICA N° 9 TIEMPO PARCIAL DE TROMBOPLASTINA (PTT)

I. INTRODUCCIÓN

La hemostasia secundaria pone de manifiesto la interacción de los vasos sanguíneos con los factores de la coagulación y plaquetas para formar un coágulo estable de fibrina

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL.

Estudiar las pruebas que miden la hemostasia secundaria, evaluando la vía intrínseca de la coagulación con todos los factores que en ella actúan.



OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la vía intrínseca de la coagulación mediante la prueba del Tiempo Parcial de Tromboplastina (PTT).
- Determinar la aplicabilidad clínica de la prueba.

III. FUNDAMENTO:

El Tiempo Parcial de Tromboplastina Activada (aPTT) es una prueba simple, sensible a las deficiencias de todos los factores de coagulación en el plasma, se realiza por la adición a la muestra del reactivo de aPTT que contiene un activador de plasma y fosfolípidos y tras una incubación a 37°C con la adición de Cloruro de Calcio se evidencia la formación del coágulo.

IV. MATERIAL, EQUIPOS Y REACTIVOS

- Equipo para toma de muestra.
- Tubos de plástico o de vidrio siliconizados.
- Tubos de vidrio de 13x75.
- Pipeta automática de 200 microlitros.
- Baño María a 37°C.
- Cronómetro.
- Coagulómetro.(Utilizado en laboratorios de alto nivel de complejidad).
- Tromboplastina Parcial más Caolín.
- Cloruro de Calcio 0.025 M.
- Citrato de Sodio al 3.8%

V. MUESTRA: Sangre citrada

Tomar una muestra de sangre venosa utilizando Citrato de Sodio al 3.8% en una proporción exacta de nueve (9) partes de sangre por una (1) parte de anticoagulante.



Preparación de la Muestra:

La sangre se debe mezclar suavemente con el anticoagulante inmediatamente después de tomar la muestra. Centrifugar de 10 a 15 minutos aproximadamente a 2000 rpm. Separar el plasma sin dañar las células rojas. Tapar las muestras para evitar los cambios de pH ya que pueden afectar los resultados de la prueba.

Seguir las mismas recomendaciones del PT para la conservación de las muestras.

VI. PROCEDIMIENTO:

Realizar por duplicado las muestras y los controles.

	Paciente	Control
Plasma citratado	0.1 ml	-
Control (Pool normal)	-	0.1 ml
Incubar de 1 – 2 minutos a 37°C		
Reactivo de aPTT	0.1 ml	0.1 ml
Incubar durante 3 minutos a 37 °C		
Cloruro de Calcio (CaCl ₂) precalentado	0.1 ml	0.1 ml
Activar el cronómetro con la adición del CaCl ₂ .		
Anotar el tiempo que se necesitó para la formación del coagulo.		

Resultados:



Calcular el tiempo medio de los duplicados de las determinaciones de aPTT para cada prueba de plasma y redondear a décimas de segundo.

Valores de Referencia:

Nota: Cada Laboratorio debe establecer los parámetros de referencia utilizando un Pool de plasmas normales. Los valores del pool normal pueden oscilar entre 25 a 30 segundos, si ese es el rango utilizado, el PTT estará prolongado si es MAYOR de 3 segundos con respecto al control normal.

Si los valores del pool normal oscilan entre 31 y 35 segundos, el PTT estará prolongado si es MAYOR de 5 segundos con respecto al control normal.

En el aPTT la activación óptima se consigue con el agregado de un activador, este puede ser Caolín o Celite o Acido elálgico.

Importancia Clínica:

La prueba de aPTT es utilizada para detectar las deficiencias en la etapa 1 del mecanismo de coagulación como son los factores VIII, IX, XI, XII y Precalicroina (Factor de Fletcher).

El aPTT comúnmente se usa para controlar la terapia en pacientes con heparina ya que la prolongación del aPTT es directamente proporcional a los incrementos de cantidad de la misma.

Es sensible en pacientes con Lupus Anticoagulante (LA) en los cuales la prueba está prolongada.

VII. TALLER:

- 1- De acuerdo a la experiencia realizada describa la importancia que tiene la determinación de la técnica de TPT
- 2- ¿Cómo prepara un Pool normal para la técnica de TPT?
- 3- ¿Qué fuentes de error pueden incurrir en la realización de la técnica de TPT.?



- 4- ¿En qué tipo de terapia anticoagulante se realiza prueba de TPT.?
- 5- De acuerdo a los datos obtenidos, realice un informe por escrito y haga su interpretación clínica.

PRÁCTICA N° 10 TIEMPO PARCIAL DE TROMBOPLASTINA AMPLIFICADO O PTT EXPANDIDO.

I. INTRODUCCIÓN.

Cuando los resultados de las pruebas screening son anormales, se hace necesario la utilización de pruebas más específicas que permiten la identificación del factor deficiente, este es el caso del PTT expandido.

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL.

Estudiar las pruebas que miden la hemostasia secundaria, evaluando la vía intrínseca de la coagulación con todos los factores que en ella actúan cuando se colocan a reaccionar con un plasma deficiente en factores de la coagulación, midiendo su efecto corrector.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Adquirir destreza en la realización de la técnica del PTT expandido.
- Analizar los resultados obtenidos y correlacionarlos con la clínica del paciente.

III. FUNDAMENTO:

Se basa en la coagulación de un plasma previamente tratado con Tromboplastina parcial y recalcificado, al cual se le hacen sustituciones con Plasma absorbido y



suero envejecido para identificar la deficiencia de un factor de la coagulación específico.

IV. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS:

- Tubos plásticos.
- Tubos de vidrio de 12x75 o 13x100
- Pipetas automáticas de 200 a 1000 uL.
- Equipo para toma de muestra.
- Citrato de Sodio al 3.8%
- Oxalato de Sodio 0.13M.
- Sulfato de Bario (Absorbe los factores vitamina K dependientes).
- Baño María a 37°C.
- Centrifuga.

V. MUESTRA. Plasma citratado.

VI. PROCEDIMIENTO:

1. Extraer al paciente 5 c.c. de sangre y adicionar a un tubo con 0.5 c.c. de Citrato de Sodio al 3.8%, 4.5 ml de la muestra, mezclar y centrifugar a 3000 rpm por 10 minutos: Se obtiene Plasma Citratado del paciente.
2. Al paciente control extraer 12 c.c. de sangre distribuidos así:
 - 4.5 c.c. a un tubo con 0.5 c.c. de Oxalato de Sodio 0.13M.
 - 4.5 c.c. a un tubo con 0.5 c.c. de Citrato de Sodio al 3.8%,
 - 2.0c.c. a un tubo de vidrio para obtener Suero envejecido.
3. Centrifugar los tubos con anticoagulante a 3000 rpm por 10 minutos y el tubo sin anticoagulante se coloca en el BoMa a 37°C durante 4 horas. Se obtiene entonces **plasma citratado y oxalatado del control**. El plasma citratado se refrigera a 4°C hasta que se vaya a trabajar.



4. Pesar 100 MG de Sulfato de Bario para 1 ml de plasma oxalatado y colocarlo a 37°C por 15 minutos para obtener Plasma Absorbido. Mezclar cada 5 minutos. Después de la incubación centrifugar a 2500 rpm por 20 minutos, separar el plasma en tubo de plástico marcado correctamente. Este plasma se denomina **Plasma Absorbido** y es rico en los factores V-VIII-I y parcialmente el XI y XII.
5. La muestra del control para suero viejo una vez incubado se retrae el coagulo y se centrifuga por una hora a 3000 rpm. Este es el **Suero envejecido** el cual es rico en los factores IX-VII-X y parcialmente el XI y XII.
6. Hacer al Plasma Absorbido y al Suero Envejecido la siguiente dilución:
Plasma Absorbido: 1:5 y Suero Envejecido: 1:10 (con S.S. 0.85%).

Las diluciones se hacen con la finalidad de que quede en la dilución una cantidad de factores equivalentes a los factores del paciente.

Marcar tres tubos: 1 -2 - 3.

	1	2	3
Plasma citratado del paciente	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
Plasma citratado del control	0.2 ml		
Plasma Absorbido del control diluido		0.2 ml	
Suero envejecido del control diluido			0.2 ml
De cada tubo tomar 0.1 ml y realizar la técnica del PTT de la forma antes descrita. Anotar los tiempos de cada tubo.			



Valores de Referencia: Más o menos 5 segundos de control de la técnica del PTT.

Importancia Clínica:

Esta prueba mide las deficiencias moderadas y graves de la vía intrínseca en su primera fase.

Análisis de Resultados:

- Cuando el paciente presenta un PT Normal y un PTT Anormal indica que hay alteración en la primera fase de la vía intrínseca de la coagulación.

Se solicita PTT expandido:

- Si el PTT expandido corrige (regresa a un valor menor del resultado anterior) con Plasma Absorbido del control, está indicando una deficiencia del Factor VIII de la coagulación: Hemofilia A.
 - Si la prueba del PTT expandido corrige con Suero envejecido, está indicando una deficiencia del factor IX: Hemofilia B.
 - Si la prueba del PTT corrige con suero y plasma absorbido del control, estamos en frente de una deficiencia del factor XI: Hemofilia C.
 - Cuando el paciente presenta PT Anormal y PTT Anormal se sospecha de una deficiencia de los factores de la vía común V-X-II-I.
 - Si la prueba del PTT corrige con Plasma Absorbido, está indicando una deficiencia del factor V o I. Por lo que se incuba el plasma absorbido a 37°C por una hora y luego se realiza de nuevo un PTT. Si corrige hay deficiencia del factor I y si no corrige, deficiencia del factor V.
- 2- Si la prueba corrige con Suero envejecido del control, se está en frente de una deficiencia del factor II o X.

La deficiencia del factor X se confirma con el Veneno de la Víbora de Russel. La deficiencia del factor II, es muy rara.



VI. TALLER:

- 1- Analizar la técnica del TPT expandido y resolver los diferentes casos que se pueden dar al hacer cada ensayo con Suero envejecido y plasma absorbido.

PRÁCTICA N° 11 PTT CRUZADO

I. INTRODUCCIÓN

La hemostasia secundaria pone de manifiesto la interacción de los vasos sanguíneos con los factores de la coagulación y plaquetas para formar un coágulo estable de fibrina

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL.

Estudiar las pruebas que miden la hemostasia secundaria, evaluando la vía extrínseca de la coagulación con todos los factores que en ella actúan.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Adquirir destreza en la realización de la técnica del PTT cruzado.
- Analizar los resultados obtenidos y correlacionarlos con la clínica del paciente

III. FUNDAMENTO:

Sometiendo un plasma normal y la muestra de plasma en estudio a diferentes concentraciones, a 37°C con el reactivo de PTT, se detectará las posibles causas de la alteración de las pruebas de coagulación.

IV. MATERIALES Y REACTIVOS:



Los mismos utilizados en la prueba de PTT.

- Reactivo de PTT.
- Cloruro de Calcio.
- Citrato de Sodio al 3.8%.

V. MUESTRA:

Tomar 5 c.c. de muestra con anticoagulante citrato de sodio 3.8%

Se guardará la misma relación 1+9 utilizada en las técnicas anteriores.

Se utilizará un control normal (Pool normal).

VI. PROCEDIMIENTO:

Marcar 5 tubos: 1 – 2 – 3 – 4 – 5.

	1	2	3	4	5
Control Normal (Pool normal)	0.5 ml	0.4 ml	0.3 ml	0.1 ml	-
Muestra del paciente	-	0.1 ml	0.3 ml	0.4 ml	0.5 ml
Realizamos a cada tubo una prueba de PTT, tomando 0.1 ml de la mezcla más 0.1 ml de reactivo de PTT incubar 3min. a 37°C y adicionar 0.1 de CaCl ₂ , cronometrar. Anotar el tiempo.					
Tapar los cinco tubos y llevarlo a 37°C durante dos horas y realizar nuevamente la prueba de PTT a cada tubo. Anotar el tiempo de coagulación.					
Relación del porcentaje que lleva cada tubo:		80% CN	50% CN	20% CN	



	100%	20% MP	50% MP	80%	100%
	CN			MP	MP

CN: Control Normal.

MP: Muestra del paciente.

Interpretación y reporte:

Cuando la prueba corrige con respecto al control después de incubar la prueba es Negativa.

Cuando la prueba no corrige es Positiva.

Opciones:

- Negativo antes y después de incubación: Se sospecha de deficiencia de algunos factores de coagulación.
- Negativo antes y después de 2 horas positivo: Puede ser un inhibidor del factor.
- Positivo antes de incubación y Negativo después de incubación: Mala técnica.
- Positivo antes y después de incubación: Se sugiere que hay Ac. Antifosfolipidos o Inhibidor tipo lúpico.

PTT cruzado rápido:

Se puede realizar en laboratorios pequeños y se utiliza para detectar también defectos en los factores de la coagulación.

Tomar partes iguales de Plasma del paciente: 0.1 ml y Plasma control (Pool normal): 0.1 ml. A esta mezcla de muestras practicar una prueba de PTT.



Si el PTT corrige después de realizar este cruce de muestras podemos pensar en defectos de algún factor de coagulación.

Nota: Si el laboratorio va a implementar las técnicas de Dosificación de Factores, deben seguirse todas las recomendaciones hechas por la casa comercial. El objetivo de esta técnica es identificar el factor deficitario en la muestra problema.

PRÁCTICA Nº 12. DETERMINACIÓN DE FIBRINOGENO

I. INTRODUCCIÓN

La hemostasia secundaria pone de manifiesto la interacción de los vasos sanguíneos con los factores de la coagulación y plaquetas para formar un coágulo estable de fibrina.

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Determinar la concentración del Fibrinógeno en una muestra citratada, mediante la realización de una curva de calibración.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Adquirir destreza en la realización de la técnica del Fibrinógeno.
- Analizar los resultados obtenidos y correlacionarlos con la clínica del paciente.
- Transpolar los resultados obtenidos en la curva de calibración.

III.FUNDAMENTO:

Al añadir trombina al plasma, el fibrinógeno se transforma en fibrina que se polimeriza en fibrina catalizada por el factor XIII. El tiempo es inversamente proporcional a la cantidad de fibrina en la muestra.



El Fibrinógeno es una proteína plasmática que pasa de un polímero soluble a uno insoluble por acción de la Trombina. Su vida media es de 3 –6 días, es estable al calor y almacenamiento.

IV. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

- Tubos de vidrio.
- Pipetas automáticas de 200 a 1000 uL.
- Baño María a 37°C.
- Centrífuga.
- Citrato de Sodio al 3.8%
- Estuche de Fibrinógeno.

V. MUESTRA:

- Las muestras sanguíneas pueden obtenerse tanto por punción venosa como a través de un catéter.
- Control normal (concentración conocida de fibrinógeno).
- Los reactivos deben ser reconstituidos de acuerdo a las recomendaciones de la casa comercial.

Preparación de la muestra:

La sangre debe mezclarse suavemente con el anticoagulante inmediatamente después de ser recogida. Centrifugar durante 10-15 minutos a 2000 rpm. Separar el plasma sin dañar la capa tamponada o las células rojas excepto si la prueba se va a realizar inmediatamente. Cubrir las muestras para prevenir cambios de pH que pueden afectar los resultados.



Las especificaciones de refrigeración son las mismas descritas en la técnica de PT y PTT.

VI. PROCEDIMIENTO:

1- Diluir el plasma 1:10 con IBS (Solución Salina Tampón de Imidazol)

- Añadir 0.9 de IBS en un tubo de 12x75.
- Añadir 0.1 ml de plasma. Esto es equivalente a una dilución 1:10.

2- Para tiempos de coagulación inferiores a 8 segundos es preferible una dilución 1:20 y por debajo de 25 segundos una dilución 1:5 o 1:3. Para calcular la concentración de Fibrinógeno usar el factor de dilución apropiado. Las muestras pueden diluirse 1:3 para minimizar interferencias. Las muestras diluidas deben utilizarse durante los 15 minutos siguientes a la dilución

Dilución	Plasma de Referencia para Fibrinógeno (ml)	IBS (ml)
1 : 5	0.1	0.4
1 : 10	0.1	0.9
1 : 15	0.1	1.4
1 : 20	0.1	1.9
1 : 40	0.1	3.8



3- Para construir la curva de calibración es un papel logarítmico, se usa el tiempo medio de coagulación obtenido a partir de determinaciones duplicadas y la concentración de fibrinógeno para cada dilución del Plasma de Referencia para fibrinógeno. La relación es lineal.

Se expone un ejemplo para entendimiento de la curva:

Plasma de Referencia para Fibrinógeno = 257 mg/dl.

Dilución	Factor de Dilución	Concentración (mg/dl)	Tiempo medio de coagulación (seg).
1 : 5	5	51.4	6.6
1 : 10	10	25.7	12.8
1 : 15	15	17.1	17.9
1 : 20	20	12.9	24.8
1 : 40	40	6.4	47.3

Los datos se grafican en el papel logarítmico, se traza la línea, para su posterior utilización.

VI. Procedimiento:

1- Realizar las muestras, las diluciones de los plasmas de referencia y los controles por duplicado.



	Muestra	Plasma de Referencia	Control
Muestra diluida 1: 10	0.2 ml		
Plasma de referencia diluido		0.2 ml	
Control Normal diluido			0.2 ml
Incubar durante 4 – 6 minutos a 37°C			
Reactivo de Fibrinógeno	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml
Activar el cronómetro con la adición del reactivo. Anotar el tiempo necesario para la formación del coágulo.			

- 2- Calcular el tiempo medio de las determinaciones duplicadas de Fibrinógeno para cada plasma y redondear a décimas de segundo.

El tiempo medio de coagulación determinado de los valores duplicados de las muestras se usa para interpolar la concentración de Fibrinógeno en mg/dl a partir de la curva de Referencia. Multiplicar por el factor de dilución correspondiente para calcular la concentración de Fibrinógeno final.

Valores de Referencia: De 150 a 375 mg/dL.

- **Nota:** Cada laboratorio debe establecer su rango normal.

Importancia Clínica:

1. La determinación del Fibrinógeno plasmático está ampliamente aceptada como un test de diagnóstico, tratamiento y prognosis de varios trastornos hemorrágicos. Hoy en día, altos niveles de Fibrinógeno están considerados



como un riesgo para enfermedades cardiovasculares, así como en pacientes diabéticos y en obesos.

VII.TALLER:

- 1- Realizar la curva para Fibrinógeno teniendo en cuenta los datos dados de los patrones.
- 2- Realizar la prueba de Fibrinógeno y verificar su concentración en la curva realizada.
- 3- Determinar la concentración de Fibrinógeno para diferentes tiempos, teniendo en cuenta el factor de dilución:
 - 12.1 segundos (dilución 1:10)
 - segundos (dilución 1:3)
 - segundos (dilución 1:20)

PRÁCTICA Nº 13 PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN DE FIBRINOGENO Y FIBRINA

I. INTRODUCCIÓN

Los productos de degradación de fibrinógeno / fibrina se forman en el cuerpo tras la activación del sistema de fibrinólisis (interacción de plasmina con fibrinógeno y fibrina), que se desarrolla en respuesta a la formación de fibrina intravascular. Los productos de degradación de fibrinógeno / fibrina tienen acción antitromboplastina, antitrombina y antipolimerasa. La plasmina activa causa una escisión asimétrica consistente de fibrinógeno / fibrina. Al principio, los fragmentos de bajo peso molecular se separan de sus cadenas α y β . Después de su escisión en el plasma sanguíneo permanece el fragmento de gran molécula X, que todavía retiene la capacidad de formar fibrina (coagular) bajo la influencia de la trombina. Luego, bajo



la influencia de la plasmina, el fragmento X se divide en los fragmentos Y y D, y el fragmento Y - en los fragmentos D y E.

Los fragmentos de fibrinólisis de gran tamaño (fragmentos X e Y) se llaman "temprano" y los fragmentos D y E son "tardíos" o finitos. Estos fragmentos de fibrinógeno y escisión de fibrina se denominan productos de degradación de fibrinógeno / fibrina.

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Conocer las técnicas para la determinación de los Productos de Degradación del Fibrinógeno y Fibrina, utilizando plasma citratado y un reactivo de látex que permite visualizar la presencia o ausencia de los PDF.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Destacar la importancia que tiene la determinación de los PDF.
- Conocer las reacciones positivas y negativas de la técnica.
- Hacer el análisis de resultados y su interpretación clínica.

III.FUNDAMENTO:

El reactivo de Látex al ponerse en contacto con la muestra de plasma citratado en estudio dejará visualizar la presencia de aglutinación para las pruebas positivas (presencia de PDF) y una mezcla homogénea sin aglutinación para las pruebas negativas (Ausencia de los PDF) evidenciándose una reacción antígeno-anticuerpo.

Se describirá una técnica sencilla con látex para la determinación de los PDF.

IV.MATERIALES, REACTIVOS:

- Tubos de plástico.
- Tubos de vidrio.
- Equipo de toma de muestra. Guardar la relación muestra anticoagulante.
- Reactivo de Látex.



V.MUESTRA: plasma citratado.

VI.PROCEDIMIENTO:

Realizar una dilución al plasma citratado 1:2.

	Paciente	Control Positivo	Control Negativo
Plasma diluido 1:2	20 uL		
Control positivo		20 uL	
Control Negativo			20 uL
Reactivo de Látex	20 uL	20 uL	20 uL

Mezclar durante 2 minutos en rotador automático y comparar las muestras con los resultados del control.

Interpretación y Reporte:

POSITIVO: Presencia de aglutinación.

NEGATIVO: Ausencia de aglutinación.

El control positivo debe aglutinar y el control negativo no debe presentar aglutinación.

A las pruebas positivas se les debe realizar diluciones seriadas para su reporte cuantitativo: 1:4 – 1:8- 1:16 sucesivamente. El resultado se reportará multiplicando



la mayor dilución que presente aglutinación por la concentración mínima detectada por el reactivo. (Mirar concentración en el inserto).

Nota:

Existen otras técnicas las cuales utilizan otra metodología, cada laboratorio debe acogerse a lo que la casa comercial ofrece para su realización.

Algunas pruebas de laboratorio son sensibles a los monómeros de fibrina, otros a los fragmentos de alto peso molecular y otros a los de bajo peso molecular, muchas pruebas son sensibles a la mezcla de estos productos.

La prueba de gelificación por etanol y la de Sulfato de protamina son sensibles primariamente a los monómeros de fibrina.

En las técnicas inmunológicas se enfrenta un antisuero (anticuerpo) contra la muestra del paciente que contiene los productos de degradación.

Importancia Clínica:

Los PDF aparecen en general durante los procesos tromboembólicos como en el CID.

Durante el proceso tromboembólico los monómeros de fibrina están presentes, en el final de la coagulación, se observa fibrina polimerizada e insoluble.

PRÁCTICA N° 14 FROTIS DE SANGRE PERIFÉRICA

I. INTRODUCCIÓN

El frotis de sangre periférica es la prueba estándar de oro para la validación del cuadro hemático automatizado y la formula leucocitaria diferencial relativa.

II. OBJETIVOS



OBJETIVO GENERAL:

Permitir que el estudiante se familiarice con las diferentes células sanguíneas y las pueda correlacionar con las anemias y leucemias vistas en clase.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Identificar las células normales y anormales de la sangre.
- Reportar correctamente un FSP.
- Hacer la correlación clínica de acuerdo a la morfología vista y a la sintomatología del paciente.

III. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPO:

- Extendidos de Sangre Periférica.
- Medulogramas.
 - Aceite de inmersión.
 - Microscopios.

IV. MUESTRA: sangre con EDTA

Una vez realizado el Hemograma es imprescindible examinar el frotis de sangre periférica cada vez que los resultados de los analizadores automatizados sean inesperados o ameriten su validación o cuando el médico lo ordena (ver **TABLA 1**), permitiendo una integración global con el hemograma.

Tabla 1. ¿Cuándo se solicita el estudio de frotis de sangre periférica?



1	Hallazgos clínicos sugestivos de anemia, ictericia inesperada o ambas
2	Hallazgos sugestivos de Drepanocitosis (Dactilitis, esplenomegalia aguda, dolor abdominal, torácico o en miembros).
3	Hallazgos sugestivos de trombocitopenia (petequias, equimosis), o neutropenia (infecciones severas inesperadas)
4	Hallazgos sugestivos de linfomas o trastornos linfoproliferativos (linfadenopatías, esplenomegalia, agrandamiento del timo u otros órganos linfoides, lesiones de piel sugestivas de infiltración, dolor óseo, síntomas sistemáticos tales como fiebre,
5	Hallazgos sugestivos de trastorno mieloproliferativo (esplenomegalia, plétora o pérdida de peso)
6	Sospecha de Coagulación Intravascular Diseminada
7	Insuficiencia renal aguda o agrandamiento renal sobre todos en niños.
8	Hemorragias, exudados o signos de hiperviscosidad ó atrofia óptica en el fondo de
9	Sospecha de enfermedad bacteriana o parasitaria puede ser sugerida por un frotis
10	Hallazgos sugestivos de cancer no hematopoyético (pérdida de peso, malestar, dolor
11	Cualquier otra causa que denote enfermedad como malestar general, fiebre inexplicable sugestiva de Mononucleosis infecciosa u otra enfermedad viral o enfermedad inflamatoria o maligna.

Muchas veces el frotis de sangre periférica logra un diagnóstico definitivo tanto en enfermedades hematológicas como no hematológicas, aunque la mayoría de las veces es una herramienta importante para proveer pistas diagnósticas que orientan hacia la solicitud de nuevos exámenes o para vigilar la respuesta a un tratamiento instaurado. Por todo esto el FSP puede proveer la única evidencia primaria de un diagnóstico específico por lo que sí es posible, debe ser considerado como parte de la historia clínica del paciente y se guarde por un largo periodo (1 mes para nuestro laboratorio) ya que puede ser importante en la evaluación posterior del paciente.

Aunque un diagnóstico puede estar sujeto a los datos obtenidos por los analizadores, algunas enfermedades pueden tener recuento normal pero morfología celular anormal que requiere revisión microscópica, y sin embargo, esta valoración microscópica depende de la calidad de un buen extendido y técnica de la coloración además que el profesional debe estar familiarizado con la morfología de las diferentes células



normales y patológicas para que sea debidamente interpretado y tenga utilidad clínica para el médico

El extendido de sangre periférica debe iniciar en objetivo de 10X con el reconocimiento de la calidad de la extensión en función a su espesor y la calidad de la tinción (ácida, básica, con precipitados). Este rastreo me ayuda a asegurar una distribución regular de leucocitos, hacer un scanner de elementos celulares anormales como blastos o células rojas nucleadas, presencia de agregados plaquetarios o patrones anormales de distribución de eritrocitos como pilas de monedas o autoaglutinación. Adicionalmente me permite reconocer las diferentes partes del extendido (cabeza, cuerpo y cola) y hacer un estimado de leucocitos, contando 5-10 campos visuales, determinar el número promedio y multiplicar por **200**.

Posteriormente para observar en detalle la morfología celular es necesario utilizar el objetivo de inmersión o 100X. En el cual se evalúa la morfología plaquetaria y obtener un estimado al contar en 5-10 campos visuales, determinar número promedio y multiplicar por **20.000**.

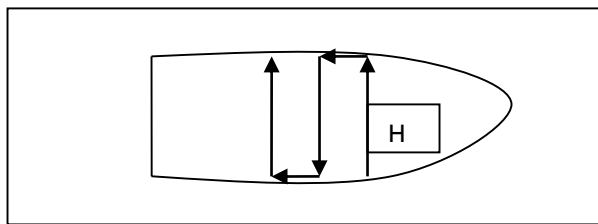
La morfología del eritrocito se evalúa de acuerdo a las variaciones en su tamaño, forma, contenido de hemoglobina y presencia de inclusiones.

El área óptima del extendido para una valoración morfológica de las células es donde los eritrocitos están juntos pero no sobrepuestos como tampoco muy extendidos o separados por que incrementa la presencia de artificios. De manera que **el cuerpo o zona media (H en el esquema) se convierte en el área óptima para el estudio de la morfología eritroide.**

El recuento diferencial o fórmula leucocitaria se realiza al contar 100 células por preparación según el esquema o método de “muralla” de modo que se clasifiquen tanto células pequeñas (linfocitos y basófilos) como células grandes (granulocitos, monocitos, blastos, etc.). Esto permite además, una gran reproducibilidad en los recuentos cuando son realizados por distintos operadores. Al realizar el diferencial cada



leucocito encontrado debe identificarse y colocarse en la categoría correspondiente, las células distorsionadas sólo deben contarse si son claramente identificadas, cuando el recuento de leucocitos es muy bajo puede realizarse el diferencial en 50 células pero debe registrarse la aclaración. En caso que se encuentre eritroblastos o normoblastos, no se incluyen en el diferencial, **estos deben informarse como N° de normoblastos por 100 leucocitos contados.**



En caso de contarse más de 10 normoblastos es necesario efectuar la corrección en el recuento de los leucocitos.

Ej. Si en 100 leucocitos clasificados contamos 20 normoblastos.

En total 120 células clasificadas.

100 leucocitos contados ----- 120 células clasificadas

X ----- N° de leucocitos contados

N° leucocitos contados x 100 leucocitos clasificados

X = -----

120 células clasificadas ó

(N° de normoblastos + 100)

X= N° de Leucocitos corregidos /mm³



También se informa la morfología leucocitaria observada que puede ser asociada al núcleo como hipo o hipersegmentación y asociadas al citoplasma como granulaciones tóxicas o vacuolas entre otras.

Hay alteraciones morfológicas que pueden aparecer por exceso de anticoagulante o preparaciones realizadas después de 6 horas de tomada la muestra como vacuolización citoplasmática, degranulación, fragmentación de la cromatina, cariólisis y cambios en la forma nuclear que deben tenerse en cuenta al momento de hacer la revisión microscópica..

Pueden existir diferentes métodos para realizar el informe de morfología celular y cada laboratorio selecciona el suyo. En general estas variaciones se gradúan por cruces en una escala semicuantitativa de 1-4 + teniendo en cuenta la cantidad de las células con determina característica o en porcentaje de la misma, como también, puede utilizarse adverbios de cantidad como ligero o escaso, moderado, marcado o abundante, sin embargo se recomienda un método combinado.

Los parámetros de tamaño y forma por cruces, contenido de hemoglobina y policromatofilia e inclusiones con adverbios de cantidad, los términos de anisocitosis y poiquilocitosis son genéricos y debe tenerse en cuenta las variaciones o tipos de células que los generan al igual que la cantidad de cada uno.

El eritrocito normal se describe morfológicamente como “Normocítico Normocrómico”, no obstante estos dos términos hacen referencia a tamaño y contenido de hemoglobina normales sin incluir poiquilocitosis o inclusiones eritrocitarias por lo que se recomienda informar “Morfología Normal” o reservar la frase para aquellos extendidos en los cuales no se encuentra ninguna patología.

Glóbulo Rojo o Eritrocito:

Generalidades:



Los eritrocitos representan alrededor del 45% del total de volumen de la sangre, en su forma madura es como un paquete lleno de hemoglobina que no contiene ningún organelo celular habitual los cuales han sido expulsados de la célula durante el curso de su desarrollo y su síntesis proteica que realiza durante el proceso de maduración y finaliza antes de salir a circulación. Por lo tanto, el eritrocito no puede crecer ni dividirse, la única vía posible de fabricar más eritrocitos es a partir de las células madre en la médula ósea mediante mitosis o multiplicación celular y maduración, que culmina con la formación del eritrocito maduro. Para ello se requieren estimuladores como:

- Hormonas: Principalmente la Eritropoyetina y otras complementarias como Andrógenos, TSH y ACTH.
- Sintetizadores de DNA como Vitamina B12 y ácido fólico que ayudan a la síntesis de ácidos nucleicos.
- Sintetizadores de Hemoglobina como aminoácidos esenciales para la molécula de globina, glicina y P-piridoxal para el HEM y hierro en estado ferroso.

El siguiente es un esquema general del proceso de eritropoyesis.

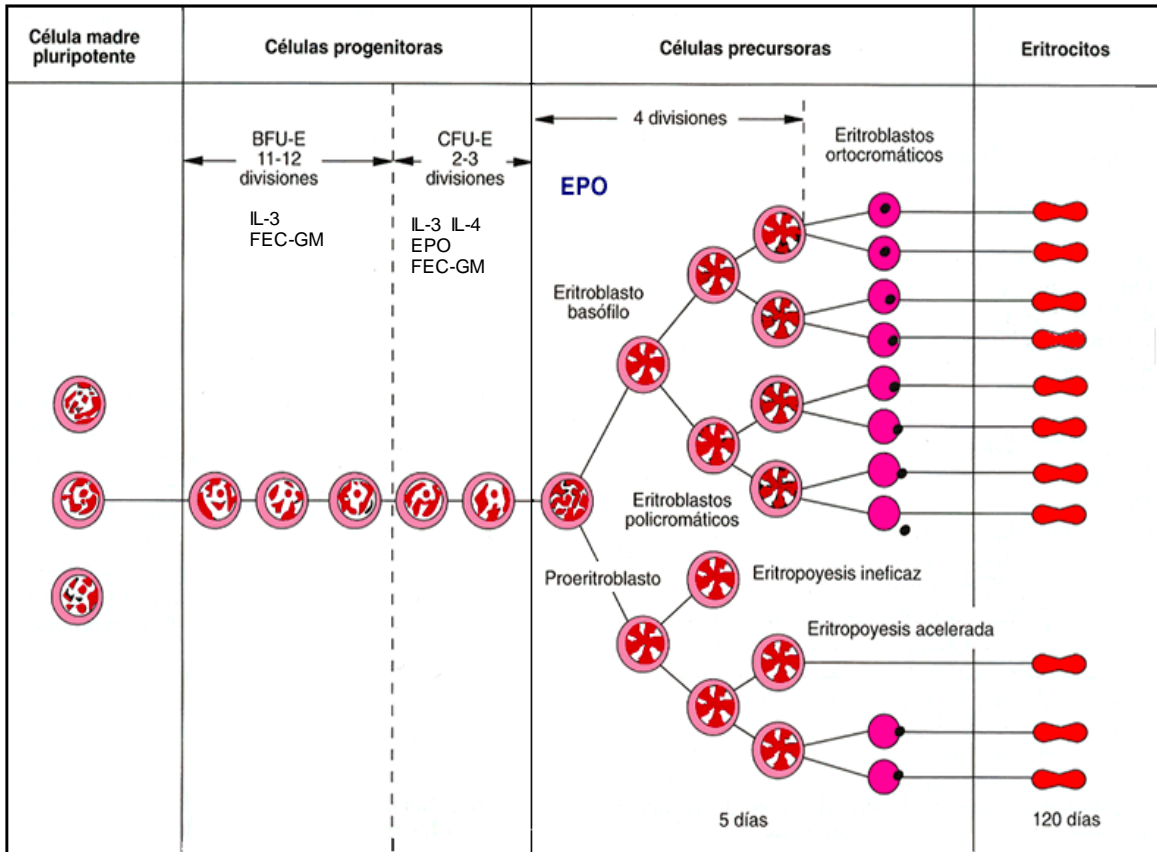


figura tomada de <http://www.iqb.es/hematologia/atlas/eritropoyesis.htm>

Los eritrocitos maduros tienen una vida media de 120 días, luego son fagocitados y digeridos por los macrófagos del hígado y del bazo, tienen una forma bicóncava flexible que les permite atravesar capilares con la mitad de su diámetro, su membrana celular es altamente resistente, constituida por proteínas, lípidos y carbohidratos componentes que se involucran en funciones de transporte, flexibilidad y antigenicidad.

Microscópicamente el glóbulo rojo normal en frotis de sangre periférica tiene forma de disco con un diámetro que oscila entre 7 -9 μ y un Volumen de 80-100 fL, color rosado o acidófilo y una zona de palidez central que ocupa la tercera parte del diámetro de la célula.



Alteraciones morfológicas de los Eritrocitos

Las alteraciones morfológicas de los eritrocitos se pueden presentar por trastornos patológicos intrínsecos (congénitas) o extrínsecos (adquiridas) de las células y están relacionadas con variaciones en el tamaño (anisocitosis), forma (poiquilocitosis), contenido de hemoglobina (hipocromía–policromatofilia), presencia de inclusiones citoplasmáticas y variación en su distribución como fenómeno de Rouleaux y autoaglutinación.

Adicionalmente existen dos términos que nos causan confusión, Anisocromía o anisocromasia y Dimorfismo o población dimórfica. El primero se refiere a la variabilidad en el grado de hemoglobinizacion de los eritrocitos observando en el frotis de sangre en un mismo campo visual tanto células hipocrómicas como normocrómicas y puede aparecer después de haber iniciado un tratamiento para anemia ferropénica; en algunos analizadores automáticos se expresa con el HDW o grado de distribución de la hemoglobina. El segundo término describe la presencia en el frotis de sangre de dos líneas celulares diferentes, por ejemplo una población normocítica normocrómica y otra microcítica hipocrómica y que al igual que el primero se expresa en los analizadores automáticos en el histograma de rojos mediante dos picos también llamada curva bimodal.

Anisocitosis o Variación en el Tamaño:

La anisocitosis es la variación en el tamaño de las células y se logra detectar con la revisión del MCV, el RDW y al examinar el frotis de sangre periférica.

Cuando hay variación significativa en el tamaño, el VCM suele ser normal debido a que es el promedio del tamaño celular, en estos casos el RDW es de utilidad y nos indica que los eritrocitos son de tamaño heterogéneo. Para evaluar de microscópicamente el tamaño del eritrocito, se compara con el núcleo de un pequeño linfocito normal.



Se informa como ligera, moderada o marcada especificando siempre a expensas de que está dada, cuando hay macrocitos y microcitos el resultado es la sumatoria de los dos.

	NORMAL	LIGERA (+)	MODERADA(++)	MARCADA(+++)
Células por campo	0-5	6-15	16-30	>30
RDW	Hasta 15,5	16-18	18-20	>20

Anisocitosis de acuerdo al RDW

Microcitos:

Son eritrocitos con un diámetro inferior a 6μ y un **VCM <80** y por lo general suele ser hipocrómica pero también puede ser normocrómica y se relacionan con un defecto en la formación de los eritrocitos por alteraciones en la producción de la hemoglobina ya sea por deficiencia en la producción de HEM o de GLOBINA como sucede en la talasemia, anemia sideroblástica, hemoglobinopatías, por deficiencia de hierro o anemias secundarias a procesos inflamatorios crónicos.

La correlación de los índices corpusculares con el FSP son de gran ayuda, pero debemos tener cuidado en los casos donde hay presencia de esferocitos y Esquistocitos (células fragmentadas) ya que nos van a disminuir el VCM sin que realmente exista una patología asociada a microcitosis.

Macrocitos:

Son eritrocitos con diámetro superior a 8μ y un **VCM >100** y suelen contener una cantidad adecuada de hemoglobina dando como resultado un HCMC normal. Se asocian con alteraciones en la síntesis de DNA como enfermedades hepáticas, anemia aplásica, endocrinopatías, y mielodisplasia. También en eritropoyesis megaloblástica por deficiencia de vitamina B12 o ácido fólico que con frecuencia se acompaña de ovalocitos y en los recién nacidos como hallazgo normal.



Al igual que en microcitos es importante manejar los índices eritrocitarios con criterio, ya que la policromatofilia nos aumenta el VCM.

	NORMAL	LIGERA(+)	MODERADA(++)	MARCADA(+++)
Células por campo	0-5	6-15	16-30	>30
MACROCITOS				
MCV fL	80-100	100-108	109-120	>120
MICROCITOS				
MCV fL	80-100	75-80	66-75	<65

Anisocitosis de acuerdo al MCV

Variaciones en el contenido de hemoglobina.

Hipocromía:

Los términos hipocromía, normocromía e hipercromía se refieren a la cantidad de hemoglobina que tiene el eritrocito en relación con el volumen y no a la cantidad de hemoglobina total en cada una de estas células por lo que la manera de obtener un dato más exacto es el MCHC. En el frotis de sangre periférica las células hipocrómicas son eritrocitos poco hemoglobinizados y presentan un área central de palidez mayor a la tercera parte del diámetro de la célula. En la mayoría de los casos donde hay hipocromía se debe a una deficiencia de hierro y típicamente suelen ser microcitos en comparación con las otras patologías asociadas a microcitos donde el grado de hipocromía es menor. Para evaluar la hipocromía se deben contar 10 campos y sacar promedio de los glóbulos rojos hipocrómicos.



	NORMAL	LIGERA(+)	MODERADA(++)	MARCADA(+++)
Células por campo	0-5	6 - 15.	16-30	>30
MCHC	32-36	30-31	29-30	<29

Hipocromía de acuerdo al MCHC

Policromatofilia:

Los glóbulos rojos policromáticos suelen ser más grandes que las células normales y presentar una coloración azulosa en el frotis de sangre como resultado de la combinación entre la afinidad de la hemoglobina para colorantes ácidos y la afinidad del RNA para colorantes básicos característico de la presencia de RNA residual en el citoplasma que usualmente corresponde a reticulocitos.

La policromatofilia es el reflejo de una médula ósea respondedora o en stress y se presenta en varias situaciones clínicas como en las anemias hemolíticas, en estados poshemorrágicos o en anemias carenciales en respuesta al tratamiento.

Para informar la policromatofilia se deben contar 10 campos visuales sacar promedio y comparar con la siguiente tabla.

	NORMAL	LIGERA(+)	MODERADA(++)	MARCADA(+++)
Células por campo	0-1	1-2	3-5	>6
Reticulocitos%	0,5-1,5	2-4	5-6	>6

Policromatofilia de a acuerdo con el recuento de reticulocitos



Inclusiones Eritrocitarias:

Punteado Basófilo:

Se caracteriza por la presencia dentro del eritrocito de gránulos basófilos de color gris azulado, irregulares que varían en tamaño y número. Están distribuidos por todo el citoplasma y corresponde a agregados ribosómicos. Se asocia con enfermedades tanto heredadas como adquiridas, en donde característicamente hay inadecuada eritropoyesis o diseritropoyesis. Dentro de las enfermedades heredadas se presenta en Síndromes talasémicos y hemoglobinopatías inestables. En las adquiridas en intoxicaciones por plomo o arsénico, anemia megaloblástica por deficiencia de vitamina B12, ácido fólico e incluida la anemia perniciosa, Anemia sideroblástica, síndromes dismielopoyéticos y leucemias.

Cuerpos de Howell-jolly:

Aparecen como inclusiones esféricas y excéntricas con un tamaño de 1-2 micras, generalmente se presentan como gránulo único, pocas veces más de dos por célula y se tiñen intensamente con los colorantes convencionales de color morado o violeta oscuro. Están compuestos por cromatina nuclear picnótica (DNA) que resulta de la expulsión incompleta del núcleo del normoblasto ortocromático en su fase final y representa una anomalía en la maduración nuclear. Son el reflejo de la función del bazo Se presentan en anemias megaloblástica, Anemia hemolítica, A. diseritropoyética, eritoblastosis fetal, después de esplenectomía o en la asplenia funcional.

Su presencia en sangre periférica puede elevar falsamente el recuento de reticulocitos cuando se realiza automáticamente.

Anillos de Cabot:

Son estructuras finas en forma de ocho o anillo formados por dos o más líneas concéntricas de color rosado o violeta rojizo. Son restos de membrana nuclear eritroblástica o de microtúbulos que quedan después de una mitosis anormal y los podemos encontrar acompañado de punteado basófilo u otras inclusiones. Se



presentan en anemia perniciosa, intoxicaciones por plomo, y otros trastornos en la eritropoyesis.

Cuerpos de Pappenheimer:

Son inclusiones intraeritrocitarias que contienen hierro y proteína en asociación con mitocondrias y restos ribosomales; raramente se encuentran en sangre periférica. Con los colorantes de azul de Prusia y Wright se observan como inclusiones basófilas redondeadas de tamaño irregular azul negruzco, por lo general asociadas en grupos de dos, cuatro o pequeños agregados que tienden a ubicarse hacia la periferia de la célula, con la primera coloración permite observar los cuerpos tiñendo la porción de hierro del gránulo mientras que con la segunda tiñe la matriz proteica del gránulo.

Se presentan en alteraciones de la eritropoyesis especialmente en anemias sideroblásticas, talasemias, alcoholismo grave y postesplenectomía.

Cuerpos de Heinz:

No se tiñen con colorantes de Romanowsky es decir no son visibles en frotis de sangre teñidos con Wright pero se pueden observar en tinciones supravitales o con microscopio de fase. Están conformados por hemoglobina desnaturalizada agregada y se observan como masas redondas de 2-3 μ cerca de la membrana celular y fija a ésta. Se presentan anemias hemolíticas por enzimopatías, hemoglobinopatías inestables, después de esplenectomía, toxinas o fármacos que afectan la hemoglobina.

Parásitos intracelulares:

Se pueden observar Hemoparásitos al interior de los glóbulos rojos o algunas formas extracelulares. Básicamente se presentan formas de Plasmodium vivax y falciparum en nuestro medio pero pueden verse también Babesias y tripanosomiasis.



	NORMAL	LIGERA(+)	MODERADA(++)	MARCADA(+++)
Inclusiones Eritrocitarias	0	1-2	3-5	>6

Informe de cualquier tipo de inclusiones eritrocitarias

Poiquilocitosis o Variación en la forma:

Es la alteración de la forma eritrocitaria, se informa como ligera, moderada o marcada de acuerdo al número de formas anormales que se observen y la poiquilocitosis total es la suma de la media por campo de cada forma individual.

Eliptocitos:

Son células que han perdido su forma bicóncava y son de aspecto alargado, conserva la palidez central con la hemoglobina concentrada a ambos extremos, tienen permeabilidad anormal de la membrana debido a un defecto de carácter hereditario como en la eliptocitosis hereditaria donde se involucran proteínas de la membrana como la espectrina y donde los eliptocitos pueden llegar a ser más del 30% de las células, pero también puede observarse en menor proporción en la anemia megaloblástica, ferropénica y mielofibrosis con metaplasia mieloide.

Esferocitos:

Son células que han perdido su forma bicóncava y han tomado una forma de esfera como su nombre lo dice, presentan diámetro menor que el normal por pérdida de la relación superficie volumen y carecen de palidez en la zona central, al contrario es el único eritrocito que se logra clasificar como hiperocrómico debido a un aumento en el CHCM. Muestran un aumento en la fragilidad en solución salina hipotónica y se forma cuando hay un defecto en la función de la membrana y están presentes en esferocitosis hereditaria, A. hemolítica adquirida, intoxicación por toxina de *C. welchii*, A hemolítica del recién nacido.



Codocitos-Dianocitos:

Son eritrocitos más delgados de lo normal que muestran un reborde periférico de Hb. con una zona oscura central que contiene Hb. Tienen forma de diana, de ahí su nombre, con una relación de superficie a volumen aumentada por lo que tienen disminuida la fragilidad osmótica o por aumento de los lípidos de la membrana. El dianocitos puede ser microcítico, normocítico ó macrocítico. Se presentan en hemoglobinopatías en especial en S y C, en talasemias, ferropenias, y en enfermedades asociadas con aumento en los lípidos de la membrana como enfermedades hepáticas, deficiencia hereditaria de lecitín-colesterol acil transferasa, después de esplenectomía y en enfermedades renales.

Esquistocitos:

Son células que han sufrido procesos de fragmentación por daño mecánico de la membrana del eritrocito, resultan particularmente características las formas en casco, triangulo y coma al igual que los filamentos que se presentan en pacientes con anemia falciforme. Usualmente son el resultado de la interacción de los eritrocitos con el endotelio dañado o con los depósitos de fibrina donde el eritrocito se fragmenta al deslizarse sobre las redes de fibrina.

Se presentan en A. hemolíticas microangiopáticas, coagulación intravascular diseminada, quemaduras extensas y rechazo a trasplante renal, púrpura trombótica trombocitopénica, Síndrome hemolítico urémico entre otros e indican la presencia de hemólisis, alteraciones de los pequeños vasos sanguíneos o presencia de fibrina en ellos.

Acantocitos:

Son eritrocitos espiculados, esferoidales y exhiben múltiples proyecciones irregulares. Se presentan como resultado de una alteración de la composición de los lípidos de la membrana. Se presenta en Abetalipoproteinemias, hepatopatías crónicas asociadas a alcoholismo crónico, quemaduras extensas, cirrosis, esplenectomía.



Drepanocitos:

Son eritrocitos delgados con extremos puntiagudos ó espiculados que semejan una hoz, también llamado célula falciforme, media luna o sickle cell. Son el resultado de la polimerización de la hemoglobina anormal cuando hay tensión disminuida de oxígeno o reducción de Ph transformándose primero en una forma de hoja de acero y luego en forma de hoz siendo irreversible en la anemia falciforme.

Se presenta en hemoglobinopatías S, C especialmente en estado homocigoto de hemoglobina S y en cualquier combinación de ésta con las otras hemoglobinas. Es importante que siempre que se observen estas formas en sangre periférica se confirme con un test de ciclaje y una electroforesis de hemoglobina.

Dacriocitos:

Son eritrocitos en forma de lágrima, raqueta o pera. Usualmente se presenta cuando hay infiltración benigna o maligna de la médula ósea y se produce cuando la célula debe pasar a través del tejido infiltrado. Se presenta en enfermedades mieloproliferativas, mielofibrosis idiopática, y en metaplasia mieloide agnogénica, Trombocitosis esencial, Policitemia rubra vera, LMC, siempre relacionando el grado de mielofibrosis y hematopoyesis extramedular.

Ovalocitos:

Son células ovales mucho más consistentes que los eliptocitos, por lo general se asocian con anemias macrocíticas megaloblásticas.

Estomatocitos:

Es un disco uniconcavo que posee zona de palidez central similar a una hendidura, en el frotis de sangre periférica le da un aspecto morfológico de boca o estoma y representa un estado transicional de discolito a esferocito y es el resultado de la expansión de la membrana por alteración en la composición de los lípidos ocasionando un aumento de la permeabilidad pasiva de la membrana la sodio, puede ser un



desorden congénito o adquirido. Se presentan en estomatocitosis hereditaria, cirrosis hepática, hepatopatía alcohólica, anemias hemolíticas autoinmunes y con el uso de ciertos medicamentos utilizados en psiquiatría, antineoplásicos o quimioterapia.

Leptocitos:

Son eritrocitos muy elongados, planos y con diámetros hasta de 10-11 micras es decir mayor al normal, sin embargo el VCM suele estar disminuido, tiene una relación de superficie a volumen aumentada también llamadas células en cigarro. Se presentan en enfermedades hepáticas y en A. hipocromicas severas como ferropénica y talasemia.

Excentrocitos:

Son eritrocitos que presentan una distribución anormal de la hemoglobina dando la apariencia que está concentrada hacia un extremo de la célula la cual es usualmente más pequeña, representa un daño oxidativo del eritrocito induciendo entrecruzamiento de las proteínas de la membrana. Se presenta en A. hemolíticas por deficiencia de G6PDH, hemólisis oxidativa por productos químicos.

Keratocitos:

Son eritrocitos que presentan dos elongaciones a manera de cachos, que se forman por fragmentación. Se presentan en hemangiomas y en A. hemolíticas debido a válvulas cardiacas.

Equinocitos:

Son eritrocitos que muestran prolongaciones cortas y regulares no espinosas que se forman en la superficie total de la célula. Se presentan en deficiencia de Piruvato kinasa, ulcera péptica, insuficiencia renal crónica, y hepatopatía

Célula en Champiñón:



Son eritrocitos que han perdido la palidez central y toman forma de hongo. Solo se presenta en esferocitosis hereditaria cuando se debe a una deficiencia de la banda 3 en la membrana del eritrocito.

Knizocito:

Es un eritrocito con más de dos concavaciones y se observa como una banda oscura de hemoglobina en el centro, que deja una zona hipocrómica a cada lado. Se observan generalmente en anemias hemolíticas particularmente en esferocitosis hereditaria y en algunas hemoglobinopatías. En pacientes con cirrosis o con estomatocitosis adquirida por hepatopatía alcohólica

Anulocitos:

También son denominadas células en anillo. Presentan un halo de hemoglobina muy delgado regular o irregular. Se considera una forma extrema de hipocromía especialmente en las anemias ferropénicas donde la CHCM se ha reducido a tal grado que bajo el microscopio sólo aparece visible la periferia de la célula con un borde muy estrecho.

	NORMAL	LIGERA(+)	MODERADA(++)	MARCADA(+++)
Poiquilocitosis	0-1	2-5	6-15	>15

Reporte de poiquilocitosis de acuerdo a la suma total de todas las formas observadas

Variaciones en la distribución:

Como se dijo anteriormente al iniciar la revisión del frotis de sangre periférica y ubicar el área ideal para observar la morfología celular es también importante identificar algunas variaciones que orientar a un diagnóstico no sospechado como son el fenómeno de rouleaux y al hemoaglutinación.



Fenómeno de Rouleaux:

Fenómeno también llamado de pilas de monedas. Consiste en la alineación de unos eritrocitos sobre otros.

Pueden aparecer en ciertos estados patológicos que se acompañan de elevación de fibrinógeno y globulinas plasmáticas provocando el amontonamiento de las células y aumento en la velocidad de sedimentación, debido a un cambio en el potencial z de los glóbulos rojos en este caso se observan con facilidad hasta en los bordes del extendido. Como en pacientes con mieloma múltiple o gamapatías policlonales y monoclonales, enfermedades inflamatorias crónicas y hepáticas severas.

También se puede observar como un artefacto en el extendido especialmente en extendido muy gruesos o se observa en la cabeza del mismo, por lo tanto se debe observar cuidadosamente en los diferentes campos o puede inhibirse cuando los eritrocitos son suspendidos en solución salina.

Fenómeno de autoaglutinación:

Son acúmulos irregulares de eritrocitos por reacción antígeno anticuerpo especialmente tipo IgM o aglutininas frías que generan una forma de anemia conocida como anemia hemolítica por anticuerpos fríos que usualmente es secundaria a un gran número de enfermedades.

Como su nombre lo dice es una aglutinación de los eritrocitos que se evidencia en sangre periférica ocasionando errores en el recuento de eritrocitos hacia una falsa disminución de los mismos afectando la determinación cuantitativa de HB y HTO pues se pierde la relación 3:1 lo mismo que un aumento en el MCV. Esto se debe a que en los sistemas basados en impedancia cuando existen crioaglutininas o presencia de anticuerpos fríos circulantes, los eritrocitos se aglutinan y pasan varios a la vez por el orificio capilar, lo que reduce el recuento y aumenta el MCV. En estos casos se debe calentar la muestra a 37°C por 30 minutos volviéndola a analizar realizando lámina para visualizar mejor la morfología de los rojos sin aglutinación. Se debe informar como



ligera, moderada o marcada autoaglutinación de acuerdo a lo observado en la lámina inicial.

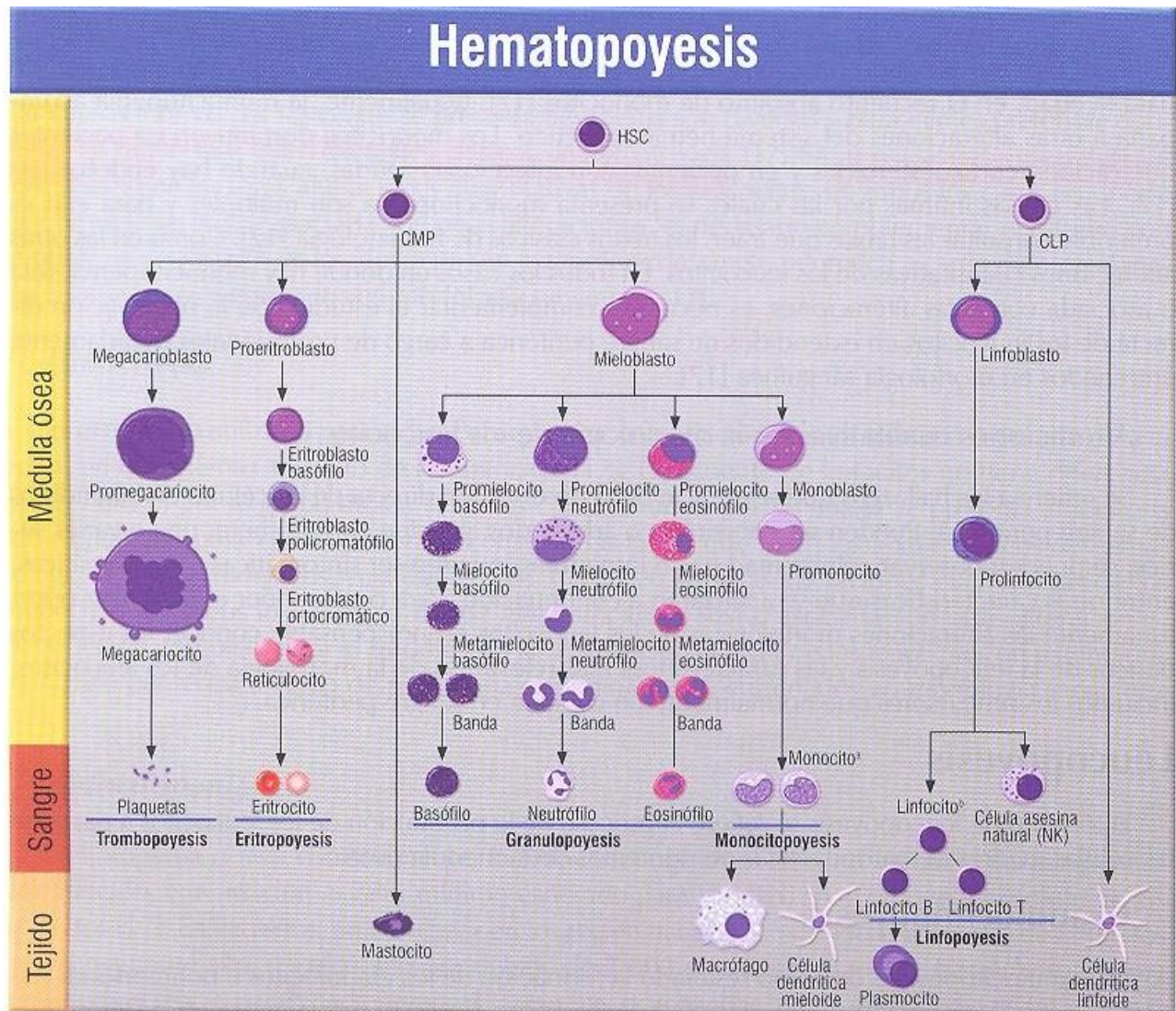
La autoaglutinación se diferencia del fenómeno de Rouleaux por sus conformaciones irregulares.

Glóbulos Blancos o Leucocitos

Generalidades.

Son células altamente especializadas cuyo principal enfoque es participar activamente en los mecanismos de defensa del cuerpo, mediante dos tipos de respuesta Celular y Humoral pero ninguno de los diferentes tipos de leucocitos cumplen su función en la sangre, solamente la utilizan como medio de transporte. Su vida media varía dependiendo de su actividad específica, las células de la línea mieloide 6-8 horas, en cambio los linfocitos su vida es más prolongada y de hecho algunos pueden sobrevivir toda la vida.

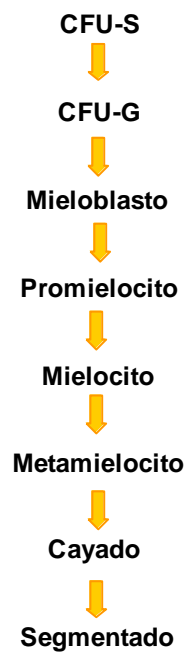
Su producción está mediada por un proceso llamado leucopoyesis, se da a partir de células pluripotenciales que bajo la estimulación de algunas interleuquinas se diseminan, maduran y se convierten en células



Hematopoyesis normal: Hematopoyesis en los diferentes compartimentos: médula ósea, sangre periférica y tejido hetopoyético. HSC: célula madre hematopoyética; CMP: célula progenitora Mieloide común; CLP: célula progenitora linfoide común (Medicina & Laboratorio, Vol.14 No.9-10, 2008)



La granulopoyesis da como resultado la formación de granulocitos que se inicia cuando la Interleuquina estimula a la célula pluripotencial hacia una unidad formadora de colonias granulomonocítica (UFC-GM) y a partir de ésta se realiza la diferenciación a mieloblasto. En general, el proceso de granulopoyesis, desde mieloblasto a segmentado, demora aproximadamente entre siete y once días. La granulopoyesis se produce según la siguiente secuencia:



Las células granulocíticas de la médula ósea se distribuyen en dos grandes compartimentos: **1)**. Mitótico o proliferativo que va desde el mieloblasto hasta el mielocito y **2)**. Maduración y almacenamiento que va desde metamielocito hasta el polimorfonuclear neutrófilo, basófilo o eosinófilo.



El CFU-GM es el precursor bipotencial que puede desarrollar CFU-G para dar granulocitos y CFU-M para dar monocitos. La monocitopoyesis tiene también origen medular y sus elementos celulares son: monoblasto que origina luego el promonocito reconocible en médula ósea y luego se transforma a monocito que finalmente se encuentra en sangre periférica y luego migra hacia los tejidos originando los histiocitos y macrófagos.

El desarrollo de las **células linfoides o linfocitos** es diferente al de las células mieloides, en esta línea no se observan cambios tan drásticos sino leves entre célula y célula. La secuencia de maduración es: linfoblasto, prolinfocito y linfocito.

Los linfocitos que se observan en la sangre periférica corresponden principalmente a tres tipos de células: **1)** Los linfocitos B que se derivan de una célula madre de la médula ósea y maduran allí hasta convertirse en células plasmáticas que secretan anticuerpos, representan entre el 20 y 45% de los linfocitos circulantes; **2)** Los linfocitos T, que se forman cuando las células madre linfoides migran de la médula ósea hacia el timo, de ahí su nombre T, en donde se dividen y maduran; aprenden a diferenciar lo propio de lo extraño y cuando están maduras abandonan este órgano y van al sistema linfático (ganglios principalmente) en donde cumplen su función inmune, ellos representan del 50 al 70% de los linfocitos circulantes y **3)** Los linfocitos NK (natural killer) o células asesinas que morfológicamente son más grandes, y representan entre el 5 y 10% de los linfocitos circulantes.

Una vez conocemos el valor de normalidad o anormalidad de los leucocitos, deberá efectuarse el diferencial o fórmula leucocitaria según el caso, para observar con detenimiento su morfología en el frotis de Sangre periférica a fin de descartar la presencia de células inmaduras. Para esto es necesario conocer muy bien la morfología normal y que podamos diferenciarlas y clasificarlas según sus características particulares:



Línea Granulocítica

Mieloblasto: Célula de gran tamaño aproximadamente entre 15- 20 μ . Posee escaso citoplasma de color azul oscuro, cromatina laxa y 1 o 2 nucléolos visibles.

Promielocito: Tiene un ligero tamaño más grande que su precursor, más o menos de 15 a 25 μ . Su forma es redonda u ovalada, su núcleo es excéntrico con cromatina un poco menos laxa y ocasionalmente presenta nucléolos. Posee gránulos tanto en núcleo como citoplasma.

Mielocito: Es la última célula con capacidad mitótica, posee núcleo redondo con cromatina más compacta, citoplasma rosado con gránulos tanto primarios como secundarios con los que se puede diferenciar ya qué tipo de célula será: eosinófilo, basófilo o neutrófilo.

Metamielocito: Es de tamaño y morfología similar a su predecesor, su citoplasma y gránulos cumplen las mismas características del mielocito y su núcleo conserva las mismas características de inmadurez y aunque ya no tiene nucléolos visibles se reduce su tamaño y presenta una muesca que le da forma arriñonada con la parte convexa situada en la periferia celular y con la cóncava dirigida hacia el centrosoma.

Banda o cayado: Al progresar en su maduración el metamielocito estrecha su núcleo y se convierte en cayado. Puede adoptar varias formas pero es importante que no presente ni siquiera indicios de lobulación. Las características del citoplasma son similares a la anterior.

Granulocitos segmentados: Se originan a partir de los cayados por segmentación nuclear. Son los elementos más maduros de la granulopoyesis y circulan por la sangre periférica donde ejercen sus funciones de fagocitosis y lisis bacteriana. Según el tipo de granulocitos, se identifican los neutrófilos, los eosinófilos y los basófilos.

Neutrófilos: Son los leucocitos predominantes en la sangre periférica, su tamaño oscila entre 12 y 14 μ , posee un núcleo con una cromatina compacta segmentada en 2 o 5 lóbulos conectados con puentes cromatínicos. Su citoplasma está lleno de gránulos



tanto primarios como secundarios que se observan de color púrpura en las coloraciones de Romanowsky.

La vida media de los neutrófilos, desde sus precursores en M. ósea hasta su muerte oscila entre 10 y 14 días, de los cuales aproximadamente la mitad está en sangre periférica, debido a que la función de los neutrófilos se realiza en los tejidos. Su función principal es la defensa del organismo contra las infecciones mediante el proceso de la fagocitosis; cuando ésta célula migra a tejido, no pasa nuevamente a circulación sino que allí es fagocitada por el sistema mononuclear fagocítico (SMF) cuando muere.

En sangre periférica el neutrófilo es el leucocito más abundante (55-60%), en el momento del nacimiento encontramos más o menos un 60% de ellos, hacia los 4 o 6 meses de vida bajan cerca de un 30% y luego de los cuatro años su concentración aumenta de manera gradual hasta los valores de adultos.

Eosinófilos: Es una célula de tamaño entre 12 y 17 μ , presenta un núcleo en forma de anteojos o bilobulado, con cromatina densa. Su citoplasma es recubierto de gránulos acidófilos relativamente grandes de color naranja brillante.

La vida media de los eosinófilos en sangre periférica es similar a la de los neutrófilos. La función primordial de estas células es la actividad fagocítica aunque en menor grado que los neutrófilos. Tienen un papel muy importante en las parasitosis donde el contenido de los gránulos rico en enzimas como la mieloperoxidasa degrada a los parásitos. También es encargado de modular las reacciones alérgicas y anafilácticas porque inactivan los mediadores liberados por las células cebadas y basófilos (histamina, serotonina, etc.)

La concentración de los eosinófilos en sangre periférica es baja, aproximadamente de 1-3% durante toda la vida.



Basófilos: Son los granulocitos de tamaño más pequeño en sangre periférica. Poseen núcleo bilobulado que generalmente está oculto por la gran cantidad de gránulos burdos que lo recubren. Estos gránulos se observan de color negro-morado con coloraciones habituales. Son ricos en peroxidada, glucógeno e histamina.

Los basófilos luego de su maduración en la médula ósea pasan a periferia donde realizan su función que es actuar como mediadores en las respuestas inflamatorias especialmente las de hipersensibilidad. Son los leucocitos menos abundantes en la sangre están de 0 a 1% y se pueden no encontrar en el momento de la realización del FSP.

Línea monocítica

Monoblasto: Son células redondeadas de gran tamaño con núcleo muy grande, cromatina bastante laxa y presencia de 2 hasta 5 nucléolos, ocasionalmente se puede observar un pliegue de la cromatina.

Promonocito: Es identificable en médula ósea, de tamaño mediano a grande, alta relación núcleo citoplasmática, su núcleo puede estar con nucléolos visibles, cromatina un poco más madura que el monoblasto y presenta pliegues o muescas tenues. Su citoplasma es basófilo.

Monocito: Son las células más grandes en sangre periférica, su tamaño oscila entre 15 y 30 μ , el núcleo es voluminoso pero tiene partes plegadas o abigarradas en hendidura, no presenta nucléolos y su cromatina es fina. Su citoplasma se observa de color azul plomizo algunas veces con gránulos o vacuolas.

Los monocitos tienen una vida media corta en sangre periférica, luego pasan a los tejidos para convertirse en macrófagos y cumplir su función: **1).** Fagocitosis de bacterias, parásitos, células dañadas, complejos antígeno-anticuerpo, etc. además de factores de coagulación activados para limitar el proceso de la coagulación y **2).** Presentación de partículas antigénicas procesadas a los linfocitos T y B.



Suelen constituir de 4 al 10% de los leucocitos totales.

Línea Linfoide

Linfoblasto: Es una célula de tamaño pequeño a mediano, tiene un citoplasma escaso intensamente azul con existencia de halo perinuclear. Su núcleo es grande con cromatina laxa y presencia de nucléolos.

Prolinfocito: Es de tamaño similar al linfoblasto, mide entre 11 y 15 μ de diámetro, Su cromatina es un poco más condensada aunque puede haber un nucléolo visible. Su citoplasma es más amplio, pierde basofilia y de esta manera se observa un poco más claro.

Linfocito: Es una célula de gran variedad de tamaño, oscila entre 7 y 16 μ de diámetro, podemos encontrar linfocitos pequeños, medianos y grandes pero las características son muy similares. Presentan núcleo con cromatina intensamente condensada en grumos, que se tiñe de morado intenso, usualmente sin presencia de nucléolos. Esta célula puede presentar gránulos en el citoplasma, éste último se tiñe de color azul claro y puede tener borde irregular.

Los linfocitos son las principales células implicadas en la respuesta inmunitaria, ya que reconocen con sus receptores de membrana los determinantes antigénicos respectivos, se encargan de la producción de anticuerpos y modulan la respuesta inmunológica.

Célula plasmática: Es una célula ovalada que presenta núcleo excéntrico de color morado con cromatina muy condensada, sin evidencia de nucléolos, su citoplasma es intensamente azul y presenta una zona más clara alrededor del núcleo.

Alteraciones morfológicas de los Leucocitos

Dentro de las alteraciones de los glóbulos blancos se pueden encontrar tanto alteraciones cuantitativas como alteraciones cualitativas y, dentro de estas últimas,



asociadas al núcleo ó al citoplasma. En el frotis de sangre periférica se informan como escasa, moderada o marcada presencia de la alteración morfológica observada.

Alteraciones Cuantitativas:

Las principales variaciones en el número hacen referencia a si el recuento total leucocitario está disminuido o aumentado y en segundo lugar al tipo de leucocito. En referencia a éste último es importante observar tanto el número relativo como absoluto de esa célula en relación con el número total de leucocitos. En la alteración cuantitativa se incluyen las respuestas ante agentes infecciosos como respuestas inmunes ante otros agentes como alérgenos, tumores, y neoplasias entre otros; los cuales profundizaremos en un módulo más adelante.

Alteraciones Cualitativas

Desviación a la izquierda:

Característicamente hay aumento de bandas y otras formas menos maduras como metamielocitos, mielocitos y promielocitos. Se asocia habitualmente a infecciones severas, sepsis, tuberculosis, neoplasias y hasta Síndrome de Down.

Macropolicitos:

También llamados pleocariocitos o hipersegmentados. Son granulocitos que se encuentran hipersegmentados presentando 5 o más lobulaciones en su núcleo. Generalmente son de mayor tamaño que un neutrófilo normal. Obedecen a procesos megaloblásticos por déficit de Vitamina B12 o A. fólico o también a Síndromes mielodisplasicos.

Granulaciones tóxicas:

Consisten en un aumento del tamaño y de la intensidad de coloración de los gránulos del neutrófilo. Aparecen en algunas infecciones bacterianas y cuando hay leucocitosis reactivas.



Vacuolas tóxicas:

Se pueden encontrar tanto en neutrófilos como en monocitos. Son espacios redondeados y no coloreados en los citoplasmas de éstos.

Cuerpos de Döhle:

Son inclusiones redondas que se observan de color azul en la periferia del citoplasma de los neutrófilos, monocitos, eosinófilos y basófilos. Por su color basófilo es más fácil identificarlos en citoplasma de neutrófilos y pasar inadvertidos en las otras células. Pueden presentarse en quemaduras, tumores e infecciones y exposiciones a drogas citotóxicas.

Restos celulares: Son pedazos de leucocitos destruidos. Generalmente se observan en Leucemias Linfoides Crónicas en las que los linfocitos son muy frágiles y se rompen fácilmente. Son llamados también células en canasta o sombras de Gumprech.

Neutrófilos necrobióticos:

Corresponden a neutrófilos apoptóticos o muertos. Se pueden observar en procesos infecciosos o en pacientes con Leucemia Mieloide Aguda, Síndromes mielodisplásicos.

Agregación de neutrófilos:

Se produce in Vitro por interacción de la sangre con el anticoagulante EDTA, parece ser un fenómeno dependiente del tiempo por lo que se aconseja procesar las muestras en el menor tiempo posible. Se puede observar también en pacientes con mononucleosis infecciosa, enfermedades autoinmunes y en algunos pacientes con anticuerpos al frío.

Cuerpos de Auer:

Son gránulos azurófilos condensados, en forma de bastón, que se encuentran en el citoplasma de mieloblastos, promielocitos y monoblastos. Se observan en leucemia



mieloide aguda, síndromes mielodisplásicos con exceso de blastos o en la crisis blástica de la Leucemia Mieloide Crónica.

Anomalía de Pelger-Huet:

Es un defecto de la lobulación del núcleo de los granulocitos que se encuentran hiposegmentados. Se habla de Pelger-Huet cuando todos los granulocitos están hiposegmentados y de pseudo Pelger-Huet cuando algunos presentan su segmentación normal.

Anomalía de Alder-Reilly:

Es una alteración hereditaria en la que se observan gránulos grandes azurófilos agrupados en forma de racimo en el citoplasma de granulocitos, monocitos y linfocitos. Se ha asociado a Síndrome de Hunter y enanismo ploidistrófico, además presente en Síndrome mielodisplásico o algunas leucemias agudas.

Anomalía de May- Hegglin:

Es un desorden hereditario raro. Se caracteriza por presencia de inclusiones basofílicas bien definidas (constituidas por ARN), en el citoplasma de neutrófilos, eosinófilos y basófilos. Se asocia con hemorragias leves, macroplaquetas hipogranulares y trombocitopenia. En su forma son muy parecidos a los cuerpos de Döhle aunque no están hacia la periferia sino distribuidos en el citoplasma de toda la célula.

Anomalía de Chediak-Higashi:

Se caracteriza por la presencia de granulocitos carentes de gránulos azurófilos primarios y presencia de gránulos pleomórficos anormales y afuncionales Chediak-Higashi. Se encuentran en granulocitos y en monocitos y en los linfocitos se presentan como únicos y muy llamativos. Se asocian con albinismo y alta frecuencia de infecciones recurrentes.



Cuerpos de Auer:

Son gránulos azurófilos condensados, en forma de bastón, que se encuentran en el citoplasma de mieloblastos, promielocitos y monoblastos. Se observan en leucemia mieloide aguda, síndromes mielodisplásicos con exceso de blastos o en la crisis blástica de la Leucemia Mieloide Crónica.

Cromatina de Barr:

Algunos neutrófilos de mujeres tiene un apéndice conocido como cuerpo de Barr o cromatina sexual, de más o menos 1,5 μm de diámetro que está unido al resto de núcleo por un pequeño filamento que representa el cromosoma X inactivo de la mujer.

Linfocitos atípicos y/o reactivos:

Se caracterizan por su basofilia en el citoplasma, Suelen tener varios sinónimos como son: célula de Turk, linfocitos atípicos, reactivos, plasmocitoides, pero no es importante diferenciarlos ya que ninguna enfermedad cursa con ellos de forma específica. Tan solo son linfocitos respondiendo a diversos estímulos inmunológicos.

Plaquetas

Generalidades

Las plaquetas son células producidas por los megacariocitos en la médula ósea mediante el proceso de fragmentación citoplasmática, poseen propiedades adhesivas, hemostáticas y pro-inflamatorias, en condiciones normales circulan por la sangre sin interaccionar con la pared vascular ya que el endotelio intacto es tromboresistente. Una vez se presenta injuria del vaso sanguíneo genera el tapón hemostático primario, cataliza la formación de fibrina y aporta tanto factores solubles como unidos a la membrana plaquetaria que promueven la cicatrización.

Son células sin núcleo que circulan en forma de disco biconvexo de aproximadamente 3 μm de diámetro, un volumen medio plaquetario de 8,3 a 11,6 fL y 10 pg de peso, con una vida media de 7 a 10 días y su concentración oscila entre 150.000 y 450.000 /



mm³. Si bien es una célula de tamaño pequeño y sencilla en su estructura utiliza complejos sistemas moleculares para regular una gran cantidad de funciones biológicas. Una plaqueta en reposo, de afuera hacia adentro se puede encontrar:
Membrana Externa,

Citoplasma, citoesqueleto, Gel contráctil, sistema canalicular abierto, sistema tubular denso, gránulos alfa y gránulos densos.

Membrana Externa

Se Constituye de una bicapa lipoproteica con glicoproteínas que funcionan como receptores de los agonistas fisiológicos de las plaquetas (ADP, TXA₂, trombina), proteínas adhesivas (fibrinógeno, fibronectina, laminina, trombospondina, vitronectina, factor de von Willebrand y para ligandos fibrosos como el colágeno, además, posee enzimas importantes para el funcionamiento celular y fosfolípidos, es responsable de la interacción de la célula con el medio circundante a través de receptores entre las que figuran las integrinas.

Citoplasma

Contiene partículas de glucógeno diseminadas o aglomeradas que constituyen la fuente energética, Contiene ribosomas en muy pocas cantidades, Soporta, además, los microtúbulos que mantienen la forma discoide de la célula y garantizan su resistencia a la deformación.

Citoesqueleto

Es un gel viscoelástico que contiene filamentos de actina entrecruzados, que junto con los microtúbulos estabiliza la forma discoide de la plaqueta.

Gel contráctil

Constituye el cuerpo de los organelos celulares, los cuales se desplazan hacia el centro de la célula a consecuencia de la contracción del gel.



Sistema Canalicular Abierto

Está formado por canales ramificados, participa en la entrada y salida de sustancias de la plaqueta. A través de este sistema se transportan las GPIIb/IIIa y la GP1b hacia los gránulos.

Sistema Tubular Denso

Es un sistema de membranas que aparece en la vecindad de los microtúbulos y rodea los organelos. Regula la activación plaquetaria mediante el secuestro o liberación de calcio.

Gránulos Alfa

Constituyen un 15 % del volumen total de la célula, participan en la interacción con otras células a través de la liberación de su contenido.

Gránulos Densos

Contienen moléculas no proteicas como calcio, serotonina, ADP, ATP y pirofosfato.

La participación de las plaquetas en los procesos de hemostasia y trombosis depende de la ocurrencia de 3 eventos: el enlace plaqueta -superficie o adhesión plaquetaria; el cambio de forma y el enlace plaqueta- plaqueta o agregación plaquetaria.

Las petequias, epistaxis, hemorragia gastrointestinal, hemorragia excesiva de heridas superficiales, cortaduras o por extracción dental, y la diátesis hemorrágica son las principales manifestaciones clínicas relacionadas con los trastornos plaquetarios.

Alteraciones cuantitativas

Las alteraciones en el número de plaquetas así como en su tamaño pueden ser clave del diagnóstico. Hay una gran variación en el rango normal del recuento de plaquetas. En desviaciones de cualquiera de los parámetros plaquetarios y alarmas relacionadas



con las plaquetas como presencia de Macroplaquetas y agregados de plaquetas entre otros se debe realizar estudio de plaquetas en extendido de sangre periférica. Y algo de gran importancia descartar en todos los casos una seudotrombocitopenia o una seudotrombocitosis que pueden tener nefastas consecuencias en el paciente.

La disminución en el número de plaquetas (por debajo del límite menor normal) se denomina trombocitopenia y el aumento en el número de las mismas (superior al límite normal más alto) se llama trombocitosis.

Trombocitopenia.

Término utilizado para indicar la disminución de la plaquetas con relación al valor mínimo esperado 150.000/ mm³.

Son muchas las causas que median una trombocitopenia pero vale la pena enfatizar en la mediada inmunologicamente por la infección por *Helicobacter pylori*, que explica hasta el 84% de las trombocitopenias inmunológicas en Colombia y hasta el 54% en el mundo, como lo demuestra el seguimiento de más de 1.500 pacientes en donde la erradicación de la infección, puede revertir la trombocitopenia.

Trombocitopenia inducida por fármacos:

Es una reacción mediada por mecanismos inmunitarios que disminuye el número de plaquetas circulantes durante los primeros 7 o más días desde el comienzo del tratamiento con un nuevo fármaco, o bien durante los 2-3 primeros días tras la reanudación de un tratamiento medicamentoso. El fármaco que desencadena con mayor frecuencia este proceso es la heparina no fraccionada. Los anticuerpos activan las plaquetas eliminándolas de la circulación. Si la trombocitopenia inducida por heparina no se identifica y trata rápidamente, se puede producir una agregación plaquetaria intravascular con rápido desarrollo de trombosis arterial y venosa. El uso de heparina de bajo peso molecular reduce este riesgo. La quinina, la quinidina y las sulfamidas pueden destruir las plaquetas por lisis mediadas por el complemento. Hay más fármacos que pueden reducir la producción plaquetaria, como los compuestos



utilizados en quimioterapia. La interrupción de la administración del fármaco resuelve el problema.

Púrpura trombocitopénica idiopática: Se debe a un trastorno auto inmunitario que da lugar a la formación de anticuerpos antiplaquetarios, de manera que las plaquetas muestran una susceptibilidad mayor frente a la fagocitosis y la destrucción en el bazo.

Púrpura trombótica trombocitopénica: Es un trastorno relativamente raro que afecta en el común de los casos a mujeres de entre 20 y 30 años. Puede deberse a una lesión endotelial con liberación de sustancias procoagulantes de las células del endotelio. Por esto la formación diseminada de trombos en las arteriolas y capilares de la microcirculación puede inducir una trombocitopenia potencialmente mortal con anemia hemolítica, insuficiencia renal y alteraciones neurológicas.

Cuando existe una trombocitopenia aislada, la causa más común es la destrucción inmune, pero existen trombocitopenias asociadas a un gran número de otras enfermedades como son:

Coagulación intravascular diseminada (CID).

Anemia hemolítica microangiopática.

Hiperesplenismo (exceso de función del bazo).

Disminución de la producción en el caso de anemia aplástica,

Invasión de la médula ósea por enfermedades malignas como leucemias, neuroblastoma, linfoma.

Quimioterapia por cáncer.

Púrpura trombocitopénica idiopática (PTI).

Leucemia.

Prótesis de válvula coronaria.



Transfusión de sangre.

Choque anafiláctico.

Algunas infecciones que producen hemorragias (púrpuras con trombocitopenia), en las que se hallan muy disminuidas.

Trombocitosis

La trombocitemia esencial es un trastorno caracterizado por aumento del número de plaquetas, hiperplasia megacariocítica y tendencia hemorrágica o trombótica. Suele aparecer entre los 50 y los 70 años y afecta con igual frecuencia a hombres y mujeres.

En pacientes ancianos con enfermedad vascular degenerativa, el aumento del número de plaquetas puede desencadenar hemorragias o trombosis graves.

Cuando el conteo de plaquetas excede 600,000 por microlitro de sangre se puede decir que hay presencia de trombocitosis esencial. Los signos y síntomas varían desde ninguno, hasta coágulos y sangrado anormal a infartos.

Las causas son desconocidas, sin embargo existen muchas otras enfermedades que se asocian a trombocitosis como son: Anemia por déficit de hierro, Enfermedad de Kawasaki, síndrome nefrótico, síndrome post-esplenectomía (tras extraer el bazo), traumatismos, tumores, trombocitosis primaria.

Seudotrombocitopenia

Término utilizado para indicar una falsa disminución en el recuento de plaquetas. Antes de definir que un paciente tiene trombocitopenia se debe seguir un protocolo que la verifique o excluya partiendo del extendido de sangre periférica.

Laseudotrombocitopenia es un fenómeno *in vitro* que se presenta en la población general en una proporción de una por cada 1.000 individuos y hasta 1.9 % de los pacientes graves. Es importante enfatizar que hasta el 15.3% de los paciente



ambulatorios con recuento de plaquetas bajos tiene una pseudotrombocitopenia, razón más para sospecharla y descartarla en todos los casos antes de informar los resultados del laboratorio.

Una de las causas más comunes se explica por la presencia de anticuerpos contra el **EDTA** (ácido etilendiaminotetracético), anticoagulante más utilizado para los hemogramas electrónicos en la cual se produce una agregación plaquetaria progresiva por efecto de la acción de anticuerpos fríos. Se puede presentar como agregados plaquetarios, satelitismo plaquetario o por la presencia de macrotrombocitos en la muestra.

El satelitismo plaquetario. Se observa como plaquetas adheridas a otras células circulantes, incluidas otras plaquetas de tamaño mayor.

Además de las pseudotrombocitopenias debidas al EDTA también se puede deber a engaños cuando las plaquetas por su tamaño, grandes, o cuando siendo normales se agrupan dos o tres para formar una células más grande, son interpretadas erróneamente como eritrocitos, ocurrido en los casos donde se presentan aglutinación de las plaquetas, plaquetas grandes (síndrome Bernard-Soulier) y en las otras formas de macrotrombocitopenias hereditarias entre otras, que usualmente se resuelven al realizar el estudio microscópico del extendido de sangre periférica.

Otra causa de falsa trombocitopenia es en pacientes con recuento de eritrocitos superiores a $6.5 \times 10^{12}/L$ pues la gran cantidad de glóbulos rojos enmascaran las plaquetas. Para esto se recomienda realizar una dilución 1:2 de la muestra con solución salina o cellpack (diluyente para analizadores Sysmex) y multiplicar por el factor de dilución.

El protocolo para aclarar el diagnóstico de una pseudotrombocitopenia dependiente de EDTA descrito en nuestro laboratorio es, después de identificar una trombocitopenia EDTA dependiente en la cual observamos grandes acúmulos plaquetarios en el frotis de sangre periférica se debe tomar una nueva muestra con citrato de sodio y el



resultado multiplicarlo por 1.1 ya que el factor de dilución es diferente. En el caso del satelitismo plaquetario se debe hacer un recuento indirecto en lámina e informar la presencia del satelitismo plaquetario en la cantidad observada. Existe adicionalmente otra trombocitopenia resultado de una mezcla inadecuada de la muestra en la fase preanalítica que se evidencia en el frotis como agregados aislados pequeños que pueden ser eliminados en algunos casos por un proceso de Vortex de la muestra o la presencia de coágulos o microcoágulos en los cuales se debe definitivamente solicitar nueva muestra.

Pseudotrombocitosis

Termino que indica un falso aumento en el recuento de plaquetas, en todos los casos se deben hacer todos los procedimientos que las verifiquen o la excluyan en los extendidos de sangre periférico. Usualmente se presenta asociada a una enfermedad, pacientes con crioglobulinemias, neoplasias asociadas con la fragmentación de células, leucemias de células peludas, quemaduras severas entre otras, como la presencia de inclusiones de eritrocitos, fragmentos eritrocíticos o parásitos del paludismo que son contados como plaquetas en los analizadores. La evidencia y reporte de estos hallazgos en el frotis de sangre periférica son de gran valor.

Variaciones morfológicas

Dentro de las variaciones morfológicas de las plaquetas se encuentran: variaciones en el tamaño, forma y en el contenido citoplasmático.

Tamaño

El tamaño de las plaquetas puede ser valorado comparándolas con los eritrocitos o idealmente, midiéndolas con un micrómetro ocular cuando se hace por métodos manuales.



En el caso de los analizadores automatizados especialmente de última generación, el tamaño se determina electrónicamente bajo el parámetro volumen medio plaquetario dado en fl.

Las plaquetas grandes de más de 4 μm de diámetro se denominan macroplaquetas y pueden llegar a tener un tamaño similar al de un eritrocito o un linfocito. Desde el punto de vista práctico el tamaño de las plaquetas se evalúa en conjunto con el volumen medio plaquetario y se verifica en el extendido de sangre periférica.

El síndrome de Bernard-Soulier también conocido como distrofia trombocitaria hemorragipara congénita se caracteriza por presencia de trombocitopenia, plaquetas gigantes y tiempo de sangría prolongado y es el más representativo de los casos de macrotrombocitos.

Forma

Los términos de anisocitosis y poiquilocitosis plaquetaria determinan las diferencias en los tamaños y formas, se correlacionan con el volumen medio plaquetario y el ancho de distribución de las plaquetas y la morfología de las plaquetas en los extendidos de sangre periférica.

Contenido Citoplasmático

Cuando las plaquetas pierden o no tienen los gránulos alfa se ven pálidos o “grises” dando lugar al cuadro clínico conocido como síndrome plaqueta gris. Ocasionalmente el EDTA inhibe la coloración de las plaquetas en el extendido de sangre periférica que puede llevar a un falso diagnóstico de síndrome de plaqueta gris, y así como en el caso de la seudotrombocitopenia nuevas muestras tomadas con otros anticoagulantes citrato o heparina pueden aclarar el diagnóstico, Plaquetas agranulares se pueden observar en pacientes con flebotomías traumáticas, debido a que durante el procedimiento se presente una degranulación de las mismas como respuesta al trauma, y en algunos casos en pacientes con enfermedades cardiovasculares con bypass cardiopulmonar.



Protocolo para la estandarización de la coloración (Coloración del Romanowsky/ Wright)

Cada nuevo lote de colorante se estandariza teniendo en cuenta la cantidad de colorante y buffer utilizado por lámina y el tiempo de acción tanto del colorante como del buffer.

El pH del Buffer debe estar entre 6.8-7.2

Filtrar el colorante de uso diario.

1. Hacer mínimo de la misma muestra 5 láminas.
2. Colorear las láminas sometiéndolas a diferentes tiempos de acción del colorante y del buffer.
3. Evaluar cada una de las láminas siguiendo las indicaciones de la tabla.
4. Seleccionar los tiempos de coloración en la lámina donde se observen mejor las características celulares.

Los siguientes parámetros permiten evaluar la calidad de la coloración y del extendido de sangre periférica.

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5
Identificación de la lámina (nomenclatura correcta)					
Calidad del extendido					



Cantidad de colorante (mL)					
Tiempo de colorante (min)					
Cantidad de buffer (mL)					
Tiempo de buffer (min)					
Color de G.R. (rosados)					
Color núcleo linfocitos (morado intenso)					
Color Plaquetas (moradas)					
Definición de membranas					
Definición de granulaciones					
Color granulaciones					



Eosinófilos <i>(rosada)</i>					
Basófilos <i>(moradas)</i>					
p H buffer					
Precipitado <i>(ausente)</i>					

*** Manual de Garantía de la Calidad en Química Clínica y Hematología INS**

Tablas guía para la valoración de las alteraciones morfológicas y la relación con el frotis de sangre.

Anisocitosis

Normal	Ligera	Moderada	Marcada
0 – 5	6 – 15	16 – 30	Mayor de 30
ADE Hasta 15.5	16.1 – 18	18.1 – 20	Mayor de 20.1

Relación Micro y Macrocitosis con el VCM

Índice	Normal	Ligera (+)	Moderada (++)	Marcada (+++)
	0 - 5	6 - 15	16 - 30	Mayor de 30
<i>Micro: VCM (fL)</i>	81 – 99	80 – 70	69 – 60	Menor de 60



<i>Macro: VCM (fL)</i>	80 – 99	100 – 108	109 – 120	Mayor de 120
------------------------	---------	-----------	-----------	--------------

Poiquilocitosis

Normal	Ligera (+)	Moderada (++)	Marcada (+++)
0 – 5	6 – 15	16 – 30	Mayor de 30

Polocromatofilia

Índice	Normal	Ligera (+)	Moderada (++)	Marcada (+++)
	0 – 1.5	1.6 – 2.5	2.6 – 3.5	Mayor de 3.6
<i>Reticulocitos (%)</i>	0.5 – 1.5	1.6 – 4	4.1 – 6	Mayor de 6

Hipocromía

Índice	Normal	Ligera (+)	Moderada (++)	Marcada (+++)
	0 – 5	6 – 15	16 – 30	Mayor de 30
<i>HCM %</i>	29 – 39	28 – 30	25 – 27	Menor de 24

Relación Cromía y HCM (picogramos)

Índice	Normal	Ligera (+)	Moderada (++)	Marcada (+++)
	0 - 5	6 - 15	16 - 30	Mayor de 30
<i>HCM (pg)</i>	29 - 33	28 - 30	25 – 27	Menor de 24



Valoración Fenómeno de Rouleaux

Normal	Ligera (+)	Moderada (++)	Marcada (+++)
0	1 - 5	6 - 15	> 15

Evaluación Inclusiones

Normal	(+)	(++)	(+++)
<i>C. Howell-Jolly</i>	0	1 - 2	3 - 5 > 6
<i>C. Pappenheimer</i>	0	1 - 2	3 - 5 > 6
<i>Punteado Basófilo</i>	0	1 - 2	3 - 5 > 6
<i>Anillos de Cabot</i>	0	1 - 2	3 - 5 > 6

Poiquilocitosis y Relación con el VCM

Forma	Norma I	Ligera (+)	Moderada(++)	Marcada(+++)	Relación conVCM
<i>Esferocito</i>	0	1 - 5	6 - 15	> 15	<i>No Afecta</i>
<i>Acantocito</i>	0	1 - 5	6 - 15	> 15	<i>No Afecta</i>
<i>Drepanocito</i>	0	1 - 5	6 - 15	> 15	<i>Disminuye</i>
<i>Codocito</i>	1	2 - 5	6 - 15	> 15	<i>Disminuye</i>
<i>Leptocito</i>	1	2 - 5	6 - 15	> 15	<i>Disminuye</i>
<i>Eliptocito</i>	1	2 - 5	6 - 15	> 15	<i>Aumenta</i>
<i>Equinocito</i>	1	2 - 5	6 - 15	> 15	<i>No Afecta</i>



<i>Esquistocito</i>	<i>1</i>	<i>2 – 5</i>	<i>6 – 15</i>	<i>> 15</i>	<i>Disminuye</i>
<i>Ovalocito</i>	<i>1</i>	<i>2 – 5</i>	<i>6 – 15</i>	<i>> 15</i>	<i>Aumenta</i>
<i>Anulocito</i>	<i>1</i>	<i>2 – 5</i>	<i>6 – 15</i>	<i>> 15</i>	<i>Disminuye</i>
<i>Estomatocit o</i>	<i>1</i>	<i>2 – 5</i>	<i>6 – 15</i>	<i>> 15</i>	<i>Disminuye</i>
<i>Dacriocito</i>	<i>1</i>	<i>2 - 5</i>	<i>6 - 15</i>	<i>> 15</i>	<i>Disminuye</i>

**Colegio Americano de Patólogos*

*Reporte grafico del cuadro hemático automatizado y relación con el FSP, A.R.
Manascero 1ª.ed.2000.*



BIBLIOGRAFÍA

1. CASAS A, SALVE M., AMICH S., PRIETO S. Hematología: Laboratorio Clínico. Mc. Graw Hill. Madrid. pág.107-115. 1994
2. MANASCERO A. Hematología, herramienta para El diagnóstico. Atlas de morfología celular, alteraciones y enfermedades relacionadas. CEJA. Bogotá - Colombia. pág. 28-45;96-111. 2003
3. CAMPUZANO G. Medicina y Laboratorio: Utilidad clínica Del extendido de Sangre Periférica: Los Leucocitos. Edimeco. Medellín-Colombia. 14(9-10) pág. 411-455. 2008
4. McKENZIE S. Hematología Clínica. Editorial, El manual moderno. México D.F. pág. 51-69; 257-273. 1991
5. BARBARA J. BAIN, Path.Importancia del frotis de sangre periférica en medicina interna. The New England journal of medicine. Diagnosis from the blood smear. Volúmen 353:498-507 Agosto 4 de 2005.
6. CAMPUZANO G. Medicina y Laboratorio: Utilidad clínica Del extendido de Sangre Periférica: Los eritrocitos. Edimeco. Medellín-Colombia. 14(7-8) pág. 311-343. 2008
7. MARGARITA BERRIO, MARIA CECILIA CORREA, MARTHA ELENA JIMENEZ. El Hemograma, Escuela de Bacteriología y laboratorio clínico de la Universidad de Antioquia. Editorial Universidad de Antioquia. 2002.
8. Shirlyn McKENZIE. Hematología Clínica, Aspectos generales y clasificación de la Anemia Editorial el manual moderno, Segunda edición.
9. BD Sistemas Preanalíticos, Dra. María Guadalupe López, Variabilidad preanalítica en Hematología, Primera edición, México 2007.
10. MANASCERO A. Atlas de morfología celular, alteraciones y enfermedades relacionadas. Anormalidades del glóbulo rojo detectadas en el frotis de sangre periférica. Bogotá - Colombia. Capítulo II/ 2003.



11. JOHN P. GREER. Wintrobe's Clinical Hematology, Examination of the blood and boné marrow. 11th Páginas 27-45. Diciembre 2003.
12. XE-2100 manual técnico en español sysmex. Analizador hematológico automático. Información técnica, limites del método Capítulo 16.6.
13. Bernardo .A. Houssay. Fisiología Humana. Cuarta edición, séptima reimpresión. Editorial "EL ATENEO"
14. Campuzano G. Utilidad del Extendido de sangre periférica: Las Plaquetas. Rev Medicina y Laboratorio. 2008 Vol. 14, numero 11-12:511-26
15. García. M. Características Estructurales y Funcionales De Las Plaquetas. Rev cubana Angiol y Cir Vas 2000; 1(2): 132-41



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