

Guía de Laboratorio

Hematología general

María Esther Lázaro Cerrón



Guía de Laboratorio
Hematología General

Material publicado con fines de estudio.

Código: 24UC00575

Huancayo, 2024

Todos los derechos reservados.

La *Guía de Laboratorio*, recurso educativo editado por la Oficina de Gestión Curricular, puede ser impresa para fines de estudio.

Contenido

Presentación

Primera Unidad

Bases fundamentales de la Hematología

Semana 1: Sesión 2

Las células sanguíneas

Semana 2: Sesión 2

Las células sanguíneas :

Características morfológicas de los leucocitos

Semana 3: Sesión 2

Evaluación de los leucocitos - Fórmula diferencial

Semana 4: Sesión 2

Métodos de análisis hematológico y técnicas de laboratorio

Segunda Unidad

Estudio de las Células Sanguíneas

Semana 5: Sesión 2

Recuento manual y automatizado de leucocitos y glóbulos rojos

Semana 6: Sesión 2

Hemoglobina y hematocrito. Constantes corpusculares.

Semana 7: Sesión 2

Recuento de plaquetas: automatizado y métodos indirectos

Tercera Unidad

Estudio de las células sanguíneas: alteraciones de la serie roja

Semana 9: Sesión 2

Los reticulocitos – índice de producción medular

Semana 10: Sesión 2

Anemias : Evaluación de las Alteraciones eritrocitarias

Semana 11: Sesión 2

Diagnóstico diferencial de las anemias

Semana 12: Sesión 2

Taller: diagnóstico laboratorial de las anemias

Cuarta Unidad

El Laboratorio en la Hemostasia

Semana 13: Sesión 2

El laboratorio en la hemostasia

Semana 14: Sesión 2

Taller: hemostasia y trastornos de la coagulación

Semana 15: Sesión 2

Hemograma automatizado y coagulometría .

Control de calidad

Referencias

Presentación

La presente Guía de Laboratorio de Hematología General, es un recurso fundamental en la formación práctica de los estudiantes y la adquisición de habilidades necesarias en el campo de la Hematología. La guía está diseñada para que los estudiantes desarrollen competencias en la ejecución e interpretación de pruebas realizadas en los equipos hematológicos automatizados y las técnicas manuales. Además, proporciona instrucciones detalladas sobre la metodología analítica utilizada en la evaluación de los distintos elementos formes de la sangre y el laboratorio de la hemostasia, permitiendo a los estudiantes comprender como se relacionan los conceptos teóricos con la práctica en el laboratorio.

La Guía de Laboratorio de Hematología General está conformada por cuatro unidades. La unidad 1, trata sobre las Bases fundamentales de la Hematología, en esta unidad realizaremos el reconocimiento de las células sanguíneas, las características morfológicas de los leucocitos, la fórmula diferencial, el frotis sanguíneo y su coloración. La unidad 2, hace referencia a Estudio de las células sanguíneas, realizaremos el recuento manual y automatizado de leucocitos y glóbulos rojos, la determinación de hemoglobina y hematocrito, el recuento de plaquetas por automatización y métodos indirectos.

En la unidad 3, se realizará el estudio de las células sanguíneas en relación con las alteraciones de la serie roja, los reticulocitos, evaluación de las alteraciones eritrocitarias, el diagnóstico diferencial de las anemias, y terminaremos con un taller relacionado al diagnóstico laboratorial de las anemias. La unidad 4 tratará sobre el laboratorio en la hemostasia, realizaremos el laboratorio en la hemostasia, el taller en el que evaluaremos la hemostasia y los trastornos de la coagulación, el control de calidad del equipo hematológico automatizado y el coagulómetro.

Tenemos como el resultado de aprendizaje de la asignatura de Hematología general, el estudiante será capaz de aplicar las principales metodologías

usadas en el laboratorio de hematología, cumpliendo los criterios de calidad de forma manual y automatizada, explicando sus fundamentos e interpretación, que contribuyan al diagnóstico y toma de decisiones

Se recomienda a los estudiantes, revisar previamente la guía antes de realizar la práctica programada, siendo el único objetivo de la presente guía, la adquisición de habilidades prácticas en el campo de la hematología.

Mg. María Esther Lázaro Cerrón

Primera **Unidad**

**Bases fundamentales de la
Hematología**

Semana 1: Sesión 2

Las células sanguíneas

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 180

minutos Docente:

Unidad: 1

Nombres y apellidos:

Instrucciones

- Lea atentamente la guía
- Reconocerá las partes del microscopio, y sus funciones, con la ayuda del docente.
- Dibuje las células sanguíneas observadas en su atlas hematológico, coloque sus características

I. Propósito

1. El estudiante reconocerá la morfología de un eritrocito.
2. Será capaz de identificar a las plaquetas, agregados plaquetarios
3. El estudiante identificará a los leucocitos.

II. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopios	Binocular	20

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Papel lente	Papel suave y delicado	40

3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Aceite de inmersión	Sustancia oleíca	5
2	Álcohol isopropílico	Solución diluida	5

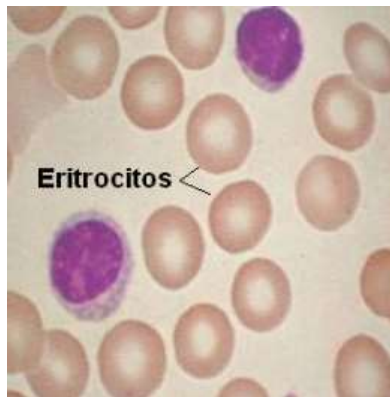
III. Indicaciones y procedimientos

Primero: Reconocimiento de la serie roja

Glóbulo rojo : Son células anucleadas de color rosado y de forma redondeada u oval, con una depresión más clara en el centro. Tienen un

diámetro de 7 μm , y 2 μm de espesor, forma bicóncava.

Figura 1. Eritrocitos

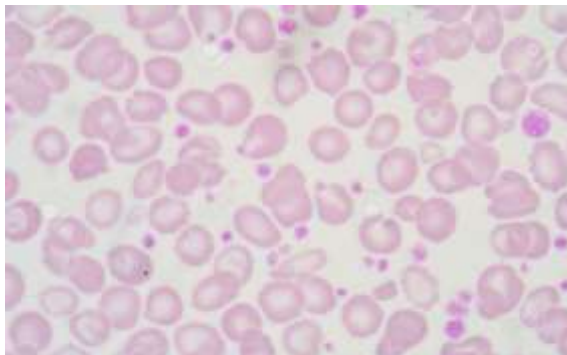


Nota: tomada de LA SANGRE-
TEJIDO SANGUINEO
<http://tejidossanguineo04.blogspot.com/2014/11/la-sangre-tejido-sanguineo-i.html>

Segundo : Reconocimiento de las plaquetas

Las plaquetas se originan a partir de la fragmentación del citoplasma de los megacariocitos. Son elementos formes de 1 a 3 μm , de color rojizo o grisáceo y muestran una fina granulación azurófila situada en la zona central el granulómero y rodeada de una zona de citoplasma pálido, el hialómero.

Figura 2. Plaquetas



Nota: tomada de Universidad Continental
<https://bit.ly/4bkgs5L>

Tercero : Reconocimiento de los leucocitos

Dentro de los leucocitos, tenemos varias células, que los podríamos clasificar en granulocitos y agranulocitos, mononucleares y polimorfonucleares, intentaremos reconocerlas y describirlas de acuerdo a sus características más sobresalientes. Los leucocitos poseen núcleo, algunos un solo núcleo (mononucleares) y otros se encuentran fragmentados y los conoceremos como los polimorfonucleares, también es importante que te fijes en las características de su citoplasma, si presentan o no gránulos, las características de su cromatina.

Figura 3. Leucocitos



Nota: tomada de Facebook de Laboratorio Santa Bárbara
<https://bit.ly/3XDLtyx>

IV. Resultados

1. El estudiante reconocerá la morfología de un eritrocito.
2. Será capaz de identificar a las plaquetas.
3. El estudiante identificará a los leucocitos.

V. Conclusiones

5.1 Las células sanguíneas se originan de una célula madre totipotencial que

tiene la capacidad de autoduplicarse y diferenciarse en las diferentes líneas celulares.

5.2 Los eritrocitos o glóbulos rojos no poseen núcleo, ni organelas.

5.3 Los leucocitos, se diferencian morfológicamente por el tamaño celular y la consistencia de la cromatina, presencia o ausencia de gránulos, etc.

VI. Sugerencias / recomendaciones

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Semana 2: Sesión 2

Características morfológicas de los leucocitos

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 180 minutos

Docente: Unidad: 1

Nombres y apellidos:

Instrucciones

- Revisa en tu guía las características diferenciales de los leucocitos
- Compara las características morfológicas de los leucocitos
- Dibuja en tu atlas y describe sus características

I. Propósito

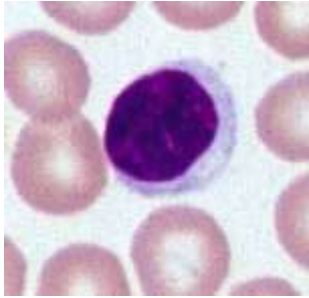
Reconoce la morfología de los leucocitos.

II. Fundamentos teóricos

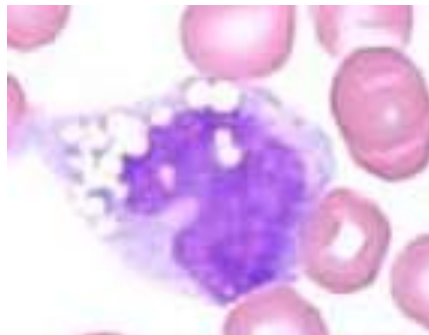
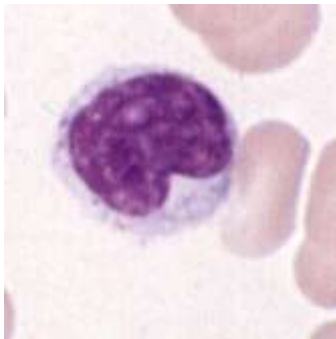
Primero : **Linfocitos y monocitos**

Linfocito: Los linfocitos que maduran en la médula ósea se denominan linfocitos B y los que lo hacen en el timo se denominan linfocitos T. Los linfocitos son células pequeñas, de 7 a 18 μm , poseen un núcleo redondo y regular, de cromatina densa compacta, separada por ligeros tonos, sin nucléolo y con escaso citoplasma basófilo color azul claro o pálido. Se pueden observar linfocitos grandes, medianos y pequeños, que varían entre sí por su relación núcleo: citoplasma, más alta en los linfocitos pequeños.

Los linfocitos NK se diferencian porque son linfocitos grandes granulares, algo mayor que el de los linfocitos maduros y que tienen un citoplasma más abundante y con escasos gránulos azurófilos claramente visibles.



Monocito : Es la célula mayor en la sangre normal. Tiene forma irregular , su diámetro varía entre 15 – 30 um, posee un núcleo grande central y redondeado, a veces posee una escotadura, dándole un aspecto arriñonado o en forma de herradura. Su cromatina ligeramente condensada o reticular. Su citoplasma es abundante y gris. Puede estar vacuolizado y contiene finas granulaciones azurófilas.



Segundo : Granulocitos

Neutrófilos : Se llaman neutrófilos porque con los colorantes convencionales no se colorean ni con las sustancias ácidas o básicas, y se diferencian a partir del mielocito en el que aparecen las granulaciones específicas o secundarias, de color pardo que contienen una gran cantidad de enzimas,

Durante la segmentación nuclear la cromatina va adquiriendo la forma de una banda, S ó C, con un ancho de núcleo uniforme o paralelo, que si se presenta un adelgazamiento no sea menor a la tercera parte del

segmento más ancho del núcleo en los abastionados, hasta adquirir casi fragmentada en el neutrófilo segmentado.

Es una célula redondeada, su diámetro varía entre 10 a 14 μm , su núcleo es de color violeta oscuro, con una cromatina densa. Su citoplasma es de color rosado con finos gránulos de color pardo

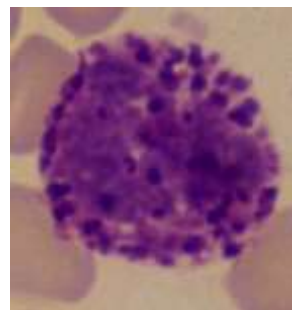
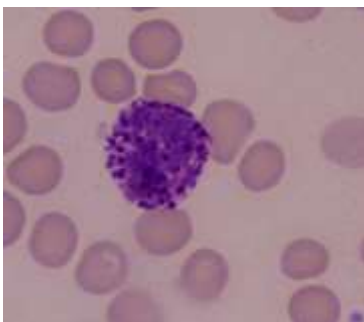


Basófilos

Los basófilos tienen la forma redondeada, con un diámetro que varía entre 12 a 14 μm . Su núcleo presenta hendiduras pero sin llegar a sementarse, generalmente con la forma de una hoja de trébol.

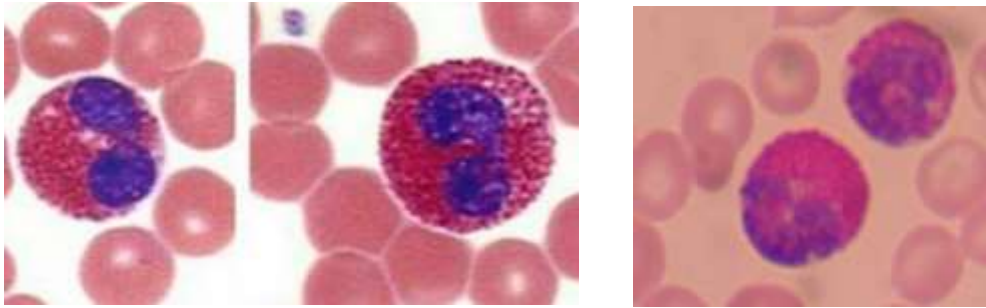
Su citoplasma está lleno de grandes gránulos fuertemente basófilos, que se tiñen de color azul intenso con los colorantes básicos, que impiden muchas veces observar el núcleo.

En el citoplasma también se pueden observar vacuolas formadas después del vaciado de los gránulos.



Eosinófilos : Son redondeados, aproximadamente de 12 a 17 μm , su núcleo es de color violeta, y generalmente tienen la forma de dos alforjitas.

Poseen una gran cantidad de gránulos acidófilos que se tiñen de color anaranjado, con la eosina de los colorantes habituales.



III. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopios	Binocular	20

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Papel lente	Papel suave y delicado	40

3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Aceite de inmersión	Sustancia oleíca	5
2	Álcohol isopropílico	Solución diluida	5

IV. Indicaciones y procedimientos

1. Identifique los leucocitos que no presentan gránulos (linfocitos y monocitos)
2. Diferencie la granulación secundaria correspondiente a los eosinófilos, neutrófilos y basófilos.

V. Resultados

1. El estudiante reconocerá la morfología de un linfocito.
2. Será capaz de identificar al monocito.

3. El estudiante reconocerá la morfología de un neutrófilo abastonado y segmentado.
4. Será capaz de identificar a los basófilos.
5. El estudiante diferenciará por su morfología a los eosinófilos

VI. Conclusiones

- 6.1 Los linfocitos y monocitos son agranulocitos y los podemos diferenciar por su tamaño, y sus características morfológicas.
- 6.2 Los neutrófilos poseen una granulación muy fina de color pardo, y se encuentran en mayor cantidad en nuestro torrente sanguíneo.
- 6.3 Los basófilos son caracterizados por su granulación azulada negruzca que inclusive llegar a cubrir el núcleo y no nos deja visualizarlo.
- 6.4 Los eosinófilos presentan granulación de color naranja.

VII. Sugerencias / recomendaciones

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Semana 3: Sesión 2

Evaluación de los leucocitos - Fórmula diferencial

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 180 minutos

Docente: Unidad: 1

Nombres y apellidos:

Instrucciones

- Revise el frotis sanguíneo
- Ubique la zona de lectura
- Realice el recuento de 100 leucocitos haciendo uso del contómetro y/o aplicativos del celular.
- Análisis de características y anomalías morfológicas
- Dibuja en tu atlas y describe sus características

I. Propósito

Realizar la fórmula diferencial de los leucocitos

II. Fundamentos teóricos

La fórmula diferencial de los leucocitos, también conocida como recuento diferencial de leucocitos, es una prueba de laboratorio que mide el porcentaje de cada tipo de glóbulo blanco (leucocito) en una muestra de sangre. Esta prueba es importante y útil por varias razones:

Diagnóstico de Enfermedades: Ayuda a diagnosticar diversas enfermedades, como infecciones, inflamaciones, alergias, y ciertos tipos de cáncer como la leucemia y el linfoma¹.

Monitoreo de Tratamientos: Permite monitorear la respuesta del cuerpo a tratamientos médicos, como la quimioterapia, y evaluar la efectividad de estos tratamientos.

III. Indicaciones y procedimientos

1. Verificación del conteo

a. A 10x:

Revisar en forma panorámica el frotis, a fin de tener una visualización a 10X, en campos donde los eritrocitos se encuentren en su mayoría separados entre si.

a.1. Este recuento consiste en contar tres a diez campos, haciendo el promedio de leucocitos y multiplicar por 250. Generalmente se observa entre 20 a 45 leucocitos por campo de 10x, se considera normal. Menor de 20 están disminuidos o mayor de 45 están aumentados.

a.2. Otra forma es contar cinco campos y la sumatoria multiplicarla por 40,

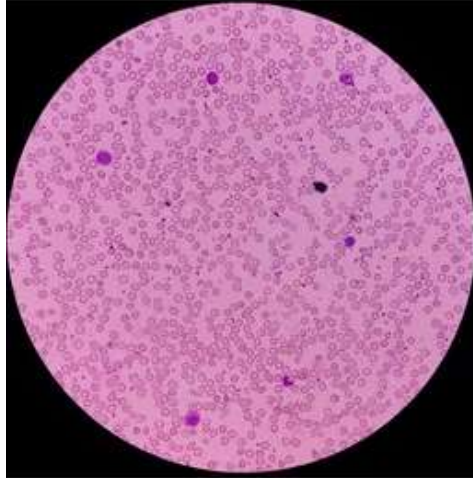
b. A 40x:

También se puede observar a 40x varios campos y el numero promedio de leucocitos se multiplica por 2000 a 3000 para tener una aproximación adecuada del recuento leucocitario.

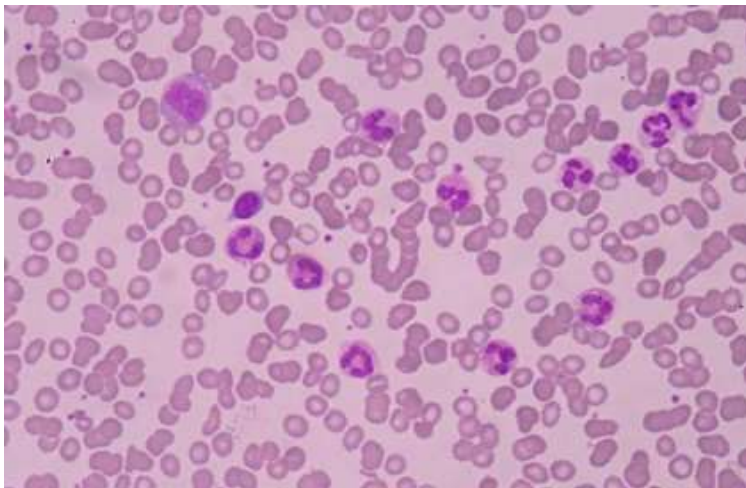
Por ejemplo , si después de examinar 8 o 10 campos, se determina que hay entre 4 a 5 leucocitos por campo, la estimación del recuento seria de 8,000 a 10,000 leucocitos/mm³.

Estas técnicas pueden servir como control de calidad interno porque si hay disparidad entre este recuento y el obtenido en el equipo hematológicos se debe verificar para saber, si se trata de una muestra equivocada o mal rotulada.

Debemos de informar los leucocitos totales en el frotis como: disminuidos, normales en número, aumentados o muy aumentados, de acuerdo como se encuentren en la muestra que se está analizando.



Frotis sanguineo a 10X



Frotis sanguineo a 40x

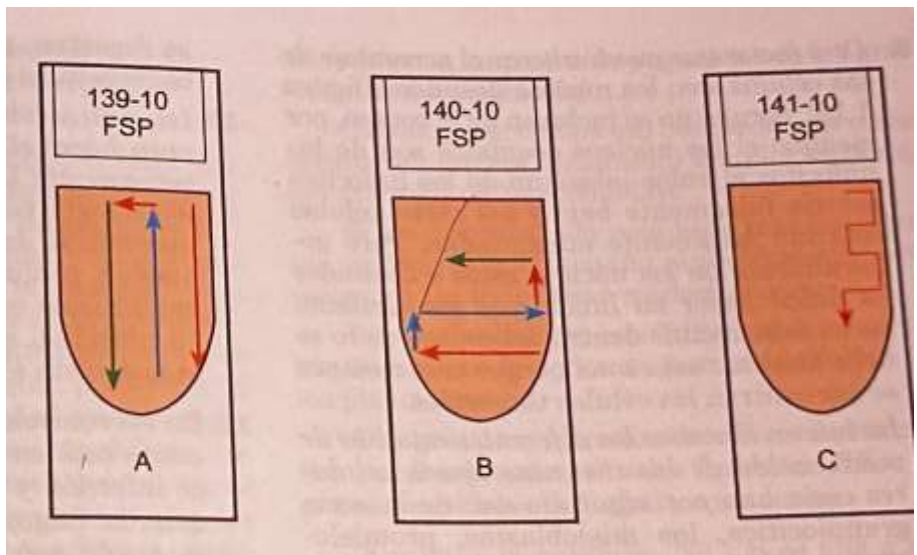
2. **Fórmula diferencial :**

Es el recuento de los glóbulos blancos con el objetivo de 100x, obteniéndose la proporción de los diferentes tipos de células en terminos porcentuales, sin incluir los eritroblastos, si se llegan a observar se reportan aparte, mientras contamos los 100 leucocitos en forma paralela, para obtener una cantidad mas exacta.

El recuento diferencial de los leucocitos esta influenciado por:

La distribución de las células en el extendido: cuando no hay buena distribución las células grandes se encuentran en los bordes (cola), los linfocitos y plaquetas en todo el extendido. Se tienen 3 formas para realizar el recuento:

- a. Para una mala distribución se hará el recuento de la parte mas gruesa hacia la mas delgada a lo largo de la muestra, compensando la mala distribución entre el centro y el borde (fig. A)



- b. El método de battlement (B) es el mas común, se inicia identificando la zona ideal y en sentido contrario a la anterior.
- c. El método de battlement (C) es la combinación de los dos anteriores, no compensa la mala distribución de las células debido a que solo se evalúan los extremos, es importante incluir los bordes porque ahí encontramos los monocitos, neutrófilos, linfocitos reactivos, células inmaduras y células tumorales grandes. Debemos tener cuidado porque en los bordes las células se deforman y podemos confundirlos.

IV. Resultados

- a. El estudiante será capaz de realizar el control de calidad de los leucocitos haciendo uso de la lámina hematológica.

- b. El estudiante realizara la formula diferencial e interpretara sus resultados.

V. Conclusiones

- a. El control de calidad de los leucocitos es un procedimiento muy importante para el aseguramiento de los resultados.
- b. Al realizar la formula diferencial podemos conocer si existen o no alteraciones de los leucocitos e interpretar las causas de los mismos,

VI. Sugerencias / recomendaciones

- A. Realizar un buen extendido con una calidad adecuada, ni muy gruesos, ni muy delgados.
- B. Buena calidad de coloración
- C. Mejorar la identificación morfológica de algunas células

Semana 4: Sesión 2

Métodos de análisis hematológicos y técnicas de laboratorio

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 180 minutos

Docente: Unidad: 1

Nombres y apellidos:

Instrucciones

- Cada alumno debe contar con una cantidad de láminas portaobjeto para realizar sus extendidos sanguíneos.
- Seguir las instrucciones brindadas en la guía de laboratorio
- El tamaño de la gota de sangre, el ángulo y la rapidez con la que se realiza el extendido son fundamentales para obtener resultados óptimos.

I. Propósito

Realizar el frotis sanguíneo y su coloración con calidad sobresaliente.

II. Fundamentos teóricos

La toma de muestra es una actividad que aparentemente es muy sencilla, pero que tiene mucha importancia porque se interactúa con pacientes y el personal, y se podrían contaminar sino observamos rigurosamente las medidas de bioseguridad. Tenemos que también tener en cuenta los factores fisiológicos que puedan afectar al resultado de las pruebas. En la actualidad se realiza la toma de muestra con tubos al vacío, que poseen diferentes tipos de anticoagulantes o sin ellos, también se hace uso de agujas estériles. Si hacemos una correcta toma de muestra, vamos a tener seguridad con los resultados obtenidos, porque se considera que la fase preanalítica, y considerándose en ella la adecuada toma de muestra es la principal causa de errores que puedan ocurrir en el laboratorio.

El frotis sanguíneo es una extensión de una capa fina de sangre periférica sobre una lámina portaobjeto, que nos servirá para la evaluación citomorfológica de las células sanguíneas y estudiar sus posibles alteraciones.

III. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	microscopios	binocular	20 unidades

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Tubos al vacío con EDTA	4 ml	20 unid.
2	Agujas	21 x 1 mm	20 unid.
3	ligaduras	De jebe	10 unid.
4	Adaptadores para agujas	De plástico	10 unid.
5	Láminas portaobjetos	Vidrio libres de grasa	10 cajas
6	Láminas biseladas	vidrio	1 caja.
7	Algodón		100 gr
8	Varillas de coloración		
9	Plumones marcadores	Tinta indeleble	10 unid.
10	Lápiz	Carbón	10 unid.
11	Esparadrapo	antialérgico	1 tubo
12	Guantes	6 ½ ó 7	20 unid.
13	Recipientes descarte material punzo cortante	Material duro de plástico y/o cartón.	1 unid.
14	Pipeta pasteur descartables	Plástico	20 unid.

3.3. Reactivos

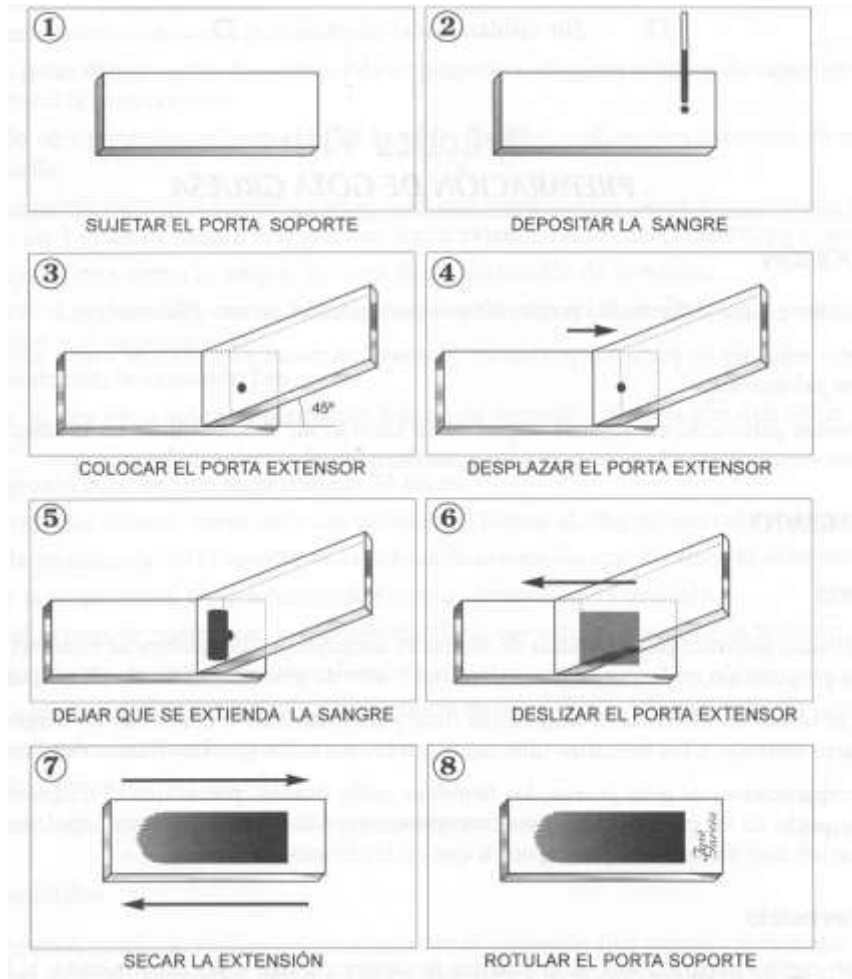
Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Alcohol	70°	20 ml
2	Colorante wrigth	Filtrado	50 ml
3	Solución tamponada		50 ml

IV. Indicaciones y procedimientos

Realización del frotis

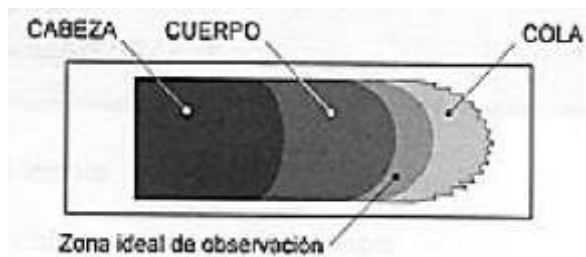
1. Homogenizar la muestra, de 10 a 20 veces.
2. Realizar la extensión preferentemente sin anticoagulante, tomar aproximadamente 10 ul de muestra, y colocarlo 2 cm antes del borde.
3. Colocar la lámina entre los dedos índice y pulgar y con la otra mano en un ángulo de 45° con la lámina biselada correr hacia atrás hasta alcanzar la gota, dejar que la gota se extienda por capilaridad y extender de una sola vez hacia delante, a una velocidad media.
4. Debe de acabarse a 1 cm antes del final de la lámina.

5. Dejar secar y rotular la lámina con el lápiz de carbón.



Nota: tomada de <https://bit.ly/3XKbyfw>

Figura 4. Partes de una extensión



Nota: tomada de <https://fisiologiandante.blogspot.com/> (2015)

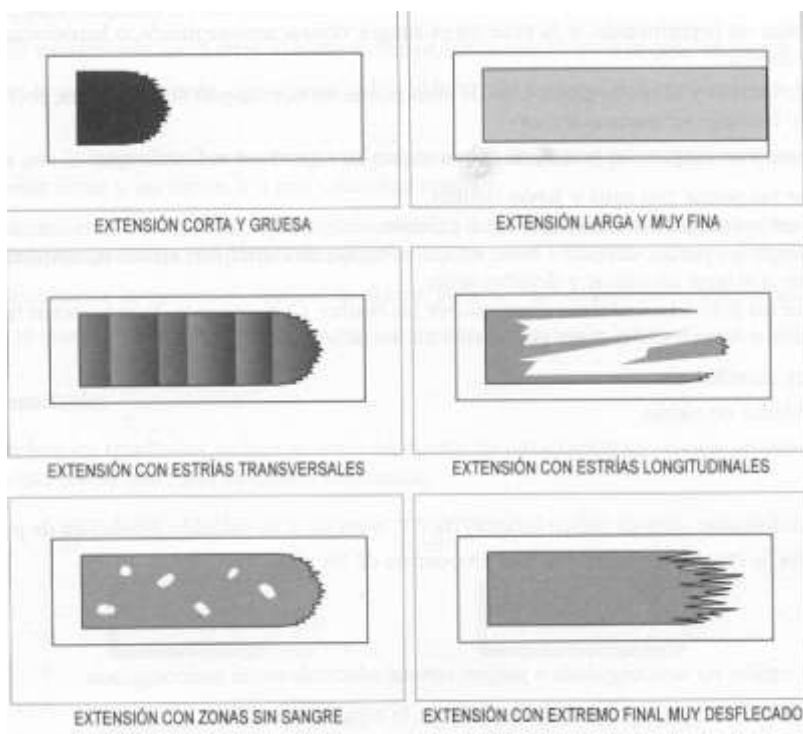
CARACTERÍSTICAS DE UNA BUENA EXTENSION:

1. Un buen frotis debe tener cabeza, cuerpo y cola.
2. Se debe dejar un espacio entre la inicio y final del frotis.
3. La extensión debe ser fina y homogénea.

DEFECTOS DE UNA EXTENSION

1. Los portaobjetos sucios causan frotis no homogéneos.
2. La gota debe ser de tamaño adecuado ni muy grande ni muy pequeño.
3. Angulo mayor o menor al hacer la extensión.
4. Error en la velocidad de la extensión del frotis

Figura 5. extensiones



1 Nota: tomada de <https://bit.ly/3zomm8V>

NOTA: Se sugiere en caso de muestras anémicas aumentar el ángulo y la velocidad de movimiento del extensor, e inversamente si la muestra es policitémica disminuir el ángulo y la velocidad de movimiento.

Tercero : COLORACION DEL FROTIS SANGUINEO

Se usan los derivados de los colorantes de Romanowsky, que están constituidos por diferentes mezclas de colorantes básicos, las tiazinas (o azul de metileno y sus derivados) y colorantes ácidos las eosinas Debemos de recordar que las estructuras celulares básicas se dejan colorear por los colorantes ácidos (eosina-color naranja). También que estructuras celulares que se dejan colorear por el azul adquieren color rojo-púrpura y se llaman azurófilas. Las estructuras celulares neutras se llaman neutrófilos y se colorean en rosa o en rojo-claro.

El colorante Wright es el más usado para colorear los frotis sanguíneos, deberían de colocarse en frascos color caramelo y filtrados, y en un ambiente oscuro.

Procedimiento:

Coloración normal

1. Cubrir con Wright por 1- 2 minutos de acuerdo a la madurez del colorante (fijación)
2. Añadir buffer o agua tamponada, hasta cubrir la lámina sin derramar, mezclar por unos 5 minutos. Mezclar
3. Lavar la lámina utilizando un chorro suave, y limpiar la espalda de la lámina con un algodón para eliminar excesos del colorante.
4. Dejar secar al aire.

Coloración rápida

5. Cubrir con algunas gotas de colorante Wright solo el frotis.
6. Añadir buffer o agua tamponada, hasta cubrir la lámina sin derramar, mezclar bien y dejar por unos 3 a 4 minutos de acuerdo a la madurez del colorante.
7. Lavar la lámina utilizando un chorro suave, y limpiar la espalda de la

- lámina con un algodón para eliminar excesos del colorante.
8. Dejar secar al aire.

Utilidad de las extensiones

1. Realizar el estudio de la fórmula leucocitaria
2. Estudio morfológico de los leucocitos, eritrocitos y plaquetas.
3. Disposición de los eritrocitos.
4. Disposición de las plaquetas.
5. Recuento indirecto aproximado del número de plaquetas y leucocitos
6. Verificación de las alarmas del equipo automatizado.
7. Estudio de la especie de plasmodium, si estuviese presente en la muestra.

Causas de alteraciones en la calidad de la tinción

El control de calidad de la tinción del frotis sanguíneo debe ser realizada y registrado por "corrida analítica" determinada por el laboratorio. De la misma manera, el laboratorio elabora el registro (control documental) para el control diario de la tinción.

1. Coloración excesivamente azul:

- a) Frotis muy gruesos.
- b) Tiempo con colorante prolongado (sobre tinción).
- c) Lavado insuficiente.

d) Colorante alcalino.

2. Coloración excesivamente rosada:

- a) Tinción insuficiente.
- b) Enjuague prolongado.
- c) Colorantes o amortiguador muy ácidos.

3. Presencia de precipitado:

- a) Portaobjetos sucios al momento de extender.
- b) Secado de láminas insuficiente.
- c) Acción excesiva de solución fijadora.

- d) Enjuague final insuficiente.
- e) Filtración inadecuada de colorante.

4. Otras alteraciones:

- a) Artefactos morfológicos por anticoagulante usado.
- b) Artefactos por suciedad, deterioro o presencia de grasa en la lámina.
- c) Hidratación de los glóbulos rojos.

V. Resultados

- 1. El estudiante conocerá y realizará la técnica adecuada de toma de muestra, así como tendrá la capacidad para decidir sobre el uso adecuado de los anticoagulantes.
- 2. El estudiante realizará extendidos adecuados de las muestras sanguíneas.

VI. Conclusiones

- 6.1** La toma correcta de una muestra sanguínea influye directamente en los resultados emitidos.
- 6.2** Debemos de conocer el uso e interferencia de los anticoagulantes en el dosaje de analitos.
- 6.3** Una buena extensión sanguínea nos permite realizar un estudio efectivo de la citomorfología, alteraciones de las tres líneas celulares.

VII. Sugerencias / recomendaciones

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Segunda

Unidad

**Estudio de las Células
Sanguíneas**

Semana 5: Sesión 2

Recuento manual y automatizado de leucocitos y glóbulos rojos

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 180 minutos

Docente: Unidad: 2

Nombres y apellidos:

Instrucciones

Revisar la guía de trabajo y seguir las instrucciones.

I. Propósito

Realiza el recuento de leucocitos y hematíes, de forma manual y automatizada.

II. Fundamentos teóricos

Los recuentos celulares son una serie de procedimientos que tienen por objeto determinar el número del tipo celular en estudio, los que se encuentran comprendidos en un mm^3 de sangre.

Todos los recuentos celulares se realizan en tres fases : dilución de la muestra, recuento de las células en la cámara de neubauer y el cálculo del número de células presentes en una unidad de volumen.

Los recuentos celulares se pueden realizar en forma manual y automatizada.

III. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1 Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopio	binocular	20 unid.
2	Equipo automatizado hematología	3 ó 5 diferenciales	1 unid.

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Pipetas automáticas de 10 ul	Fija o variable	10 unid.
2	Pipetas automáticas de 100 - 1000 ul	Variable	10unid.
3	Tips blancos	Plástico	50 unid.
4	Tips azules	plástico	50 unid,
5	Tips amarillos	plástico	50 unid.
6	Tubos	vidrio	50 unid.
7	Gradillas	Plástico y/o metal	10 unid.
8	Cámaras de Neubauer	vidrio	20 unid.
9	Papel lente		40 unid.

3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Reactivo de Turk		30 ml
2	Reactivo Hayem y/o Dacie	Solución isotónica	30 ml
3	Aceite de inmersión		10 frascos gotero
4	Alcohol isopropílico		10 frascos

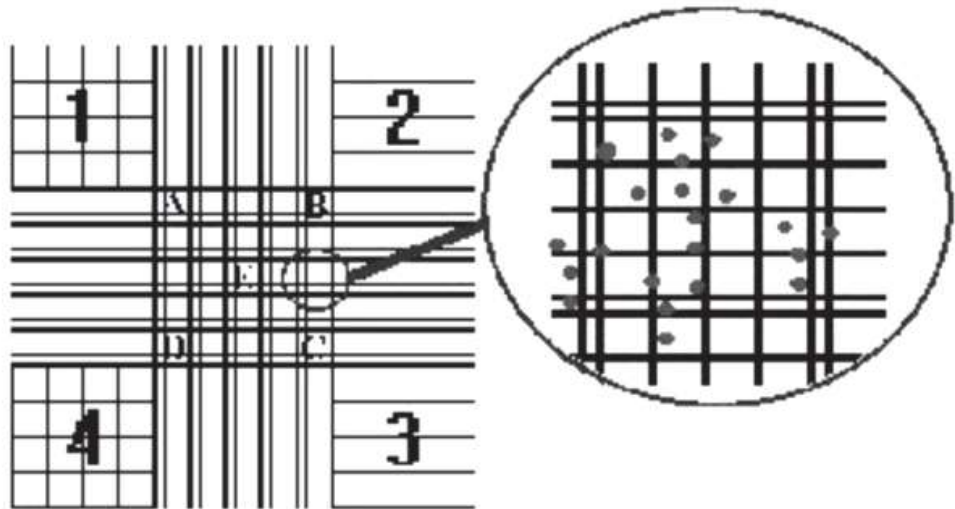
IV. Indicaciones y procedimientos

Primero: Recuento de eritrocitos

- Previamente colocar en un tubo 1.99 ml o 1990 ul, de cloruro de sodio al 0.9%, o la solución de Hayem, dilución 1/200
- Luego añadir 10 ul de sangre total previamente homogenizada, mezclar bien con el diluyente varias veces.
- Colocar 10 ul de dilución en la cámara de Neubauer.
- Dejar reposar unos minutos.
- Enfocar con el objetivo de 4x la cuadrícula de la cámara, y luego hacer el recuento con el objetivo de 10x. contar sobre el cuadrado grande central de la cámara sólo en 5 cuadrados pequeños: uno central y cuatro angulares (80 cuadraditos en total).
- En el recuento se incluyen las células que cubren o tocan por dentro o por fuera las líneas limitantes superior e izquierda en el cuadrado

pequeño de recuento y no se consideran los correspondientes a los límites inferior y derecho. Se hace el recuento en los puntos ABCD y E, se suman los valores obtenidos al contar los 5 cuadraditos.

Figura 6. Recuento de eritrocitos



Valores de referencia eritrocitos

Hombres 4 400 000 - 6 000 000/ mm³

Mujeres 3 900 000 - 5 400 000/ mm³

Cálculos:

$$\text{N}^\circ \text{ de hematíes x mm}^3 = \frac{\text{hematíes contados en 5 cuadrados pequeños}}{\text{Altura} \times \text{dilución} \times \text{área}}$$

Reemplazando

$$= \frac{\text{hematíes contados en 5 cuadrados pequeños}}{1/10 \times 1/200 \times 1/5}$$

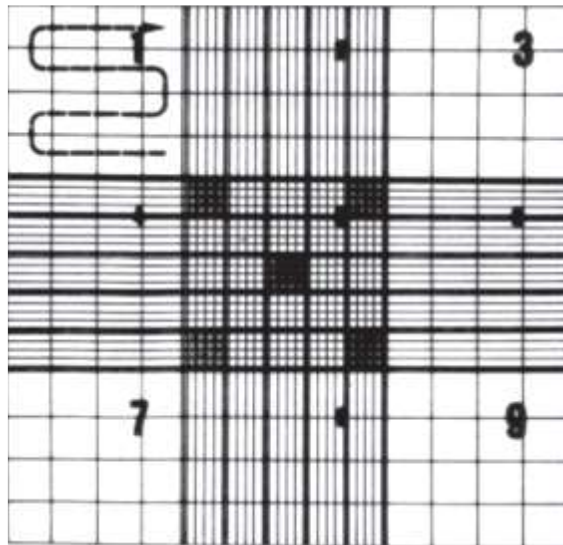
$$= \frac{\text{hematíes contados en 5 cuadrados pequeños}}{1/10\,000}$$

$$= \text{hematíes contados x 10\,000}$$

Segundo: RECuento DE LEUCOCITOS

- Colocar 190 uL de solución de Turk en un tubo de vidrio
- Con la pipeta automática, se toma 10 uL de sangre total con anticoagulante, que debe estar previamente homogenizada (10 a 20 veces suavemente) y lo colocamos en el tubo que contiene la solución turk, mezclándolo suavemente, aquí tenemos una dilución 1:20.
- Luego colocamos 10 ul del diluido en la cámara de Neubauer. Dejar que repose unos dos o tres minutos y enfocamos, primero a 4 X y luego a 10X.
- La lectura se realiza en los campos 1, 3, 7 y 9 como está indicado en la figura.

Figura 7: Patrón de Referencia para el Recuento de Leucocitos



Además de los leucocitos contados dentro de cada uno de los cuadrantes, se deben contar todos los leucocitos que se encuentren adheridos en la línea superior e izquierda

Cálculos:

Nº de leucocitos x mm³ = leucocitos contados en 4 campos

altura x dilución x área

Nº de leucocitos x mm³ = leucocitos contados en 4 campos

1/10 x 1/20 x 4

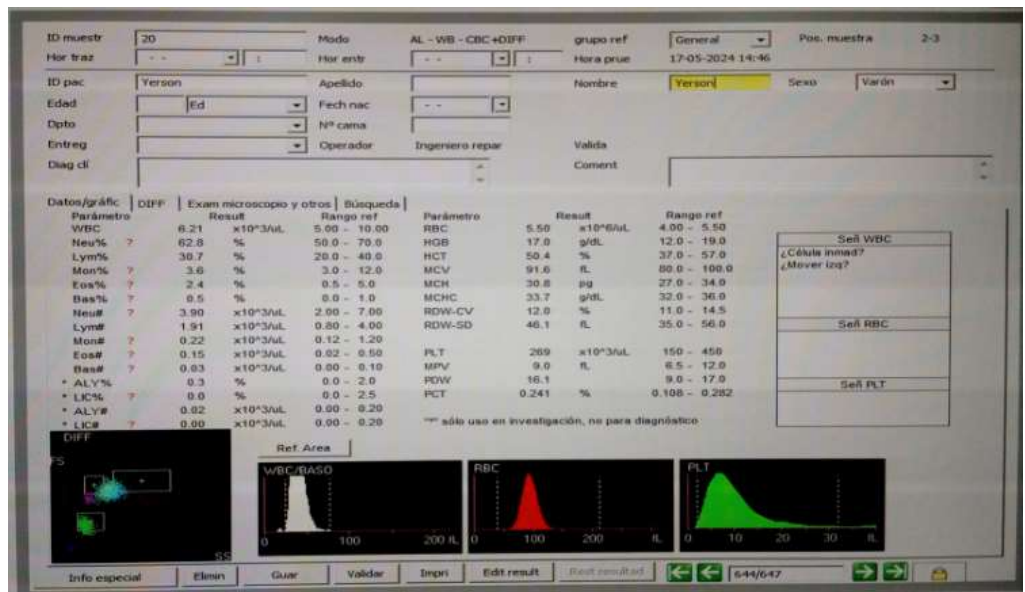
leucocitos contados en 4 campos = leucocitos contados en 4 campos x 50

4/200

Valores de referencia : 5000 - 10 000 leucocitos / mm³

INTERPRETACION DEL HEMOGRAMA AUTOMATIZADO:

Figura 8. Resultado del Analizador hematológico de Laboratorio Universidad Continental



V. Resultados

1. El estudiante estará en la capacidad de hacer el recuento manual de leucocitos y eritrocitos, en una muestra sanguínea.
2. Podrá realizar e interpretar los resultados automatizados, interpretarlos y si no corresponden a la lámina podría confirmarlos con un método

indirecto en lámina periférica.

VI. Conclusiones

- 6.1 El recuento de eritrocitos se constituye en un indicador importante para la clasificación morfológica de las anemias.
- 6.2 El recuento de leucocitos ayuda a descartar cualquier estado patológico infeccioso o leucémico de un paciente.

VII. Sugerencias / recomendaciones

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Semana 6: Sesión 2

Hemoglobina y hematocrito. Constantes

corpúsculares.

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 180 minutos

Docente: Unidad: 2

Nombres y apellidos:

Instrucciones

- Revise minuciosamente su guía de trabajo y siga las instrucciones.
- Compare sus resultados obtenidos con los que proceso en el equipo automatizado
- Se realizará una estricta observación de las medidas de bioseguridad durante el procesamiento de las muestras.

I. Propósito

Realiza el dosaje de hemoglobina y hematocrito y la interpretación de las constantes corpúsculares

II. Fundamentos teóricos

La hemoglobina es el principal componente de los glóbulos rojos sanguíneos, es una proteína conjugada que sirve como vehículo para el transporte de oxígeno y dióxido carbónico. Se mide en forma directa en el hemograma automatizado y se puede determinar en forma manual haciendo uso de la espectrofotometría.

Tiene por principio básico la oxidación del ión ferroso, del hemo, de la oxihemoglobina y de la carboxihemoglobina a hierro férrico, por el ferricianato, con formación de metahemoglobina, que se combina con el cianato de potasio para producir cianometahemaglobina (color rojo-anaranjado) medida fotocolorimétricamente a 540 nm o en filtro verde.

Su grado de absorbancia es proporcional a la cantidad de hemoglobina que contenga la sangre.

Los equipos hematológicos automatizados realizan la medición de hemoglobina en forma directa,

El hematocrito viene a ser el cociente del volumen de los eritrocitos y el de la sangre total. Se puede expresar como porcentaje en forma convencional, o como una fracción decimal en unidades SI. En la automatización se obtiene en forma indirecta como el producto del VCM por el RGR.

III. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1 Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Espectrofotómetro	Longitud de onda 505-540 nm	1 unid.
2	Microcentrífuga	10,000 rpm	1 unid.
3	Equipo automatizado hematología	3 ó 5 diferenciales	1 unid.
4	hemoglobímetro		

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Pipetas automáticas de 10 ul	Fija o variable	6 unid.
2	Pipetas automáticas de 100 - 1000 ul	Variable	6 unid.
3	Tips blancos	Plástico	30 unid.
4	Tips azules	plástico	30 unid.
5	Tips amarillos	plástico	30 unid.
6	Tubos	vidrio	12 unid.
7	Gradillas	Plástico y/o metal	6 unid.
8	capilares	vidrio	40 unid.
9	Plastilina	Colores claros	2 unid.
10	Recipientes descarte de tips	Con lejía diluida	6 frascos
11	Lector de microhematocrito		2 unid.
13	algodón		50 gramos
14	Tubos con EDTA	4 ml	20 unid.
15	Agujas	21 1 (al vacío)	20 unid.

3.3 Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Reactivo de hemoglobina	Cianometahemoglobina	70 ml
2	Standard de hemoglobina		1 unid.
3	Alcohol	70°	10 ml

IV. Indicaciones y procedimientos

Primero : Hematocrito

- Tomar la muestra en capilares rojos heparinizados, si lo hacemos directamente del pulpejo del dedo, descartando la primera gota, debe llenarse aproximadamente 70% - 80% del capilar.

Figura 9



- Además se puede procesar con la sangre anticoagulada (EDTA), previamente homogenizada 20 a 30 veces, en los capilares azules (sin anticoagulante)
- Tapar un extremo del capilar con plastilina.
- Colocar el capilar en la microcentrífuga con la parte sellada con plastilina hacia afuera.
- Centrifugar por 5 minutos entre 10 000 - 12 000 rpm.

Figura 10



Resultados (lectura)

La lectura se realiza con una escala milimetrada que expenden en el

comercio.

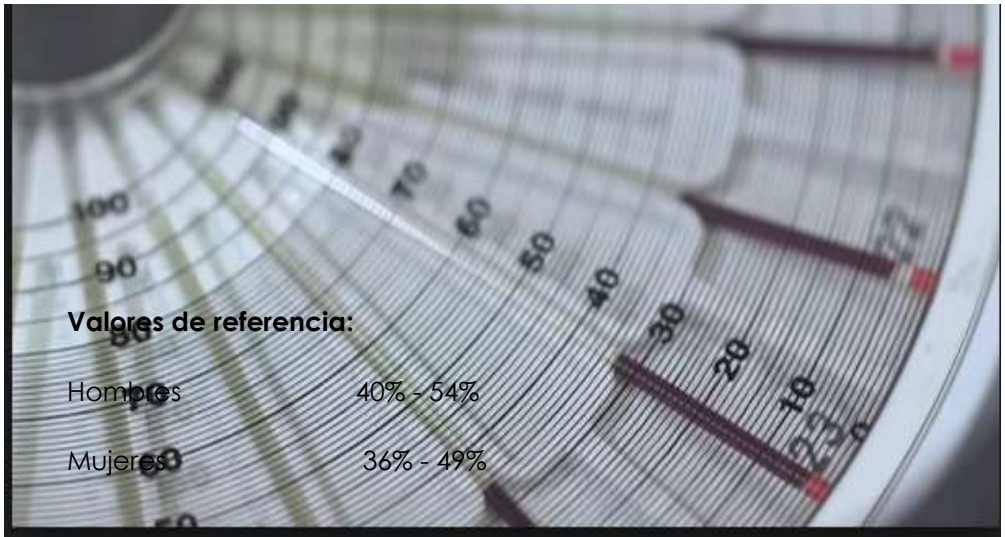
Uso de la escala:

◆ Sostenga el capilar frente a la escala de manera que el inicio de la columna de eritrocitos quede exactamente al mismo nivel de la línea horizontal correspondiente al cero y la parte superior del plasma, coincida con el 100%, colocándose el tubo en posición vertical, el lugar de separación entre la fase plasmática y la parte celular será el valor del hematocrito.

Figura 10



Figura 11. Uso de la tapa de la centrifuga de hematocrito



Regla milimetrada

1. Se mide colocando en cero a la parte inicial del paquete globular, midiendo también el otro punto en el que termine el paquete globular y el tercer punto en la parte superior final del plasma.
2. Con éstos datos se halla por regla de 3 simple el valor del hematocrito.

Observaciones: colocar el color del plasma si es patológico (ejemplo ámbar, lipémico, hemolizado, etc.)

Segundo: Dosaje de hemoglobina

Procedimiento:

- Pipetear 5 ml de reactivo en 3 tubos, rotular como blanco (B), standard(S) y desconocido (D).
- Añadir al tubo (S) 20 ul de standard, y al (D) 20 ul de muestra previamente homogenizada respectivamente.
- Dejar reposar 5 minutos y leer la absorbancia a 540 nm o filtro verde, haciendo uso de la solución blanco (B).

- Hallar el factor, haciendo uso de la siguiente fórmula:

$$\text{Factor} = \frac{\text{concentración standard}}{\text{Absorbancia standard}}$$

Figura 12: comparación de Resultados en Muestras



VALORES DE REFERENCIA

Hombres 14 a 18 g/dl

Mujeres 12 a 16 g/dl

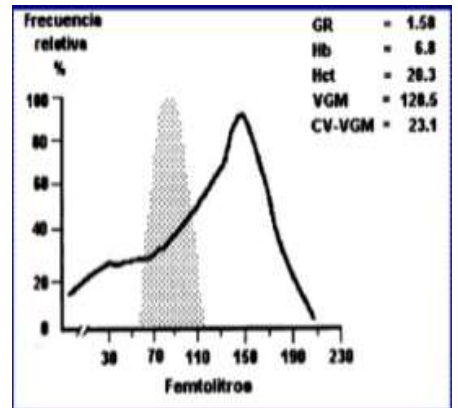
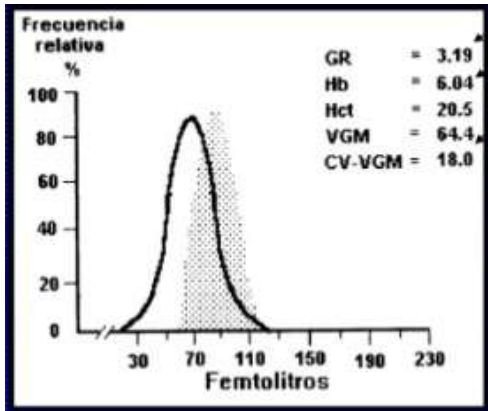
Tercero: CONSTANTES CORPUSCULARES

VCM (VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO) : Se puede calcular mediante la siguiente fórmula:

$$\text{VCM} = \frac{\text{Hto} \times 100}{\text{RGR}}$$

El valor normal es de 80 a 100 fl y se denomina normocítico, valores por encima de 100 fl corresponde a una macrocitosi, y por debajo de 80 fl a una microcitosi.

Figura 13. Frecuencias



HCM (HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MEDIA) Es el valor medio del contenido de hemoglobina de los eritrocitos y se calcula :

$$\text{HCM} = \frac{\text{Hb (g/dl)}}{\text{RGR}} \times 100$$

Su valor normal en adulto es 27 – 31 pg lo cual implica que el peso promedio de hemoglobina en una cantidad dada de glóbulos rojos está en el rango apropiado.

CHCM (CONCENTRACION DE HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MEDIA)

Es la concentración de hemoglobina media en los hematíes, se calcula:

$$\text{CHCM} = \frac{\text{Hb (g/dl)}}{\text{Hto (\%)}} \times 100$$

El valor normal es de 32 a 36%, lo cual implica que la cantidad de hemoglobina por glóbulo rojo está en la concentración apropiada.

V. Resultados

1. El estudiante estará en la capacidad de realizar el dosaje de hemoglobina.
2. Podrá realizar e interpretar los resultados del hematocrito.

VI. Conclusiones

- 6.1** El hematocrito nos permite conocer el valor del mismo y observar las características como el color del plasma, si es transparente o lipémico, etc.
- 6.2** La cianometahemoglobina es un método más exacto para el dosaje de hemoglobina.
- 6.3.** También haciendo uso del hemoglobinómetro podríamos obtener el valor de la hemoglobina. El equipo automatizado realiza la medición directa de la hemoglobina.

VII. Sugerencias / recomendaciones

.....

.....

.....

.....

.....

Semana 7: Sesión 2

Recuento de plaquetas: automatizado y métodos indirectos

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 180 minutos

Docente: Unidad: 2

Nombres y apellidos:

Instrucciones

Revisa la guía de prácticas y tomar en cuenta los protocolos

Tener en cuenta las medidas de bioseguridad

I. Propósito

Realiza el recuento de plaquetas por métodos indirectos y automatizado

II. Fundamentos teóricos

El recuento manual indirecto de plaquetas es una técnica utilizada para estimar el número de plaquetas en una muestra de sangre. Esta técnica es importante por varias razones:

Diagnóstico de Enfermedades: Ayuda a diagnosticar condiciones como la trombocitopenia (bajo recuento de plaquetas) y la trombocitosis (alto recuento de plaquetas), que pueden ser indicativas de diversas enfermedades hematológicas y sistémicas¹.

Confirmación de Resultados: Sirve como método de confirmación para los resultados obtenidos por métodos automatizados, asegurando la precisión y exactitud del recuento de plaquetas.

III. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1 Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopio	binocular	20 unid.
2	Equipo automatizado hematología	5 diferenciales	1 unid.

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Pipetas automáticas de 10 ul	Fija o variable	10 unid.
2	Tips blancos	Plástico	50 unid.
3	Gradillas	Plástico y/o metal	10 unid.
4	Papel lente		40 unid.
5	Laminas	plástico	50 unid.
6	Material de coloración hematologica	vidrio	5 unid.
7	Material de toma de muestra		20 unid.

3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Aceite de inmersión		10 frascos
2	Alcohol isopropílico	Solución isotónica	10 frascos

IV. Indicaciones y procedimientos

Primero: Recuento de Plaquetas

Método de damasheck

- Observamos el frotis sanguíneo con el objetivo de inmersión
- Elegimos una zona, para su examen, de la preparación en la que las células no estén superpuestas y se mantenga su morfología.
- Contamos el número de plaquetas que hay en 10 campos y las anotamos.

$$\text{N.º PLAQUETAS} = \text{PLAQUETAS}(1+2+3+4+5+6+\dots+10) \times \text{FACTOR} \times 100$$

Factor = hematocrito < igual a 35	+5
36-38	+3
39-40	+1
>40	+0

MÉTODO DE FONIO

$N^{\circ} \text{ PLAQUETAS} = \frac{N^{\circ} \text{ Plaquetas en 1000 GR X RGR (por mm}^3\text{)}}{1000 \text{ GR contados}}$

1000 GR contados

MÉTODO FACTOR 20,000

$N^{\circ} \text{ PLAQUETAS} = \frac{N^{\circ} \text{ Plaquetas en 1000 GR X 20000}}{10}$

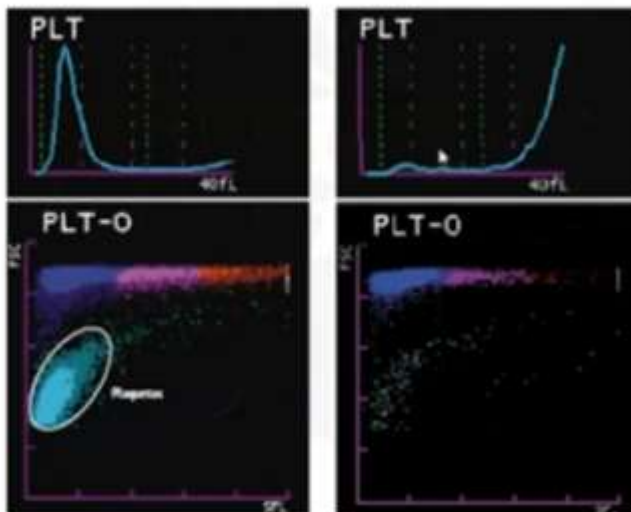
10

Valores de referencia de plaquetas

150,000 – 450,000 pmmc

Figura 14: recuento óptico

RECUENTO ÓPTICO



Resultados Anormales

a) Niveles aumentados (trombocitosis):

- Neoplasia

- Policitemia vera
- Síndrome postesplenectomía
- Artritis reumatoide
- Anemia por deficiencia de hierro

b) Niveles disminuidos (trombocitopenia):

- Hiperesplenismo
- Hemorragia
- Trombocitopenia inmunitaria
- Leucemia y otros trastornos neurofibróticos
- Trombocitopenia trombótica
- Trastornos trombocitopénicos
- Coagulación intravascular diseminada
- Lupus eritematoso sistémico
- Anemia perniciosa
- Anemia hemolítica
- Quimioterapia para tratamiento del cáncer
- Infección

V. Resultados

- El estudiante será capaz de realizar el recuento indirecto de plaquetas por tres métodos
- El estudiante será capaz de conocer las características morfológicas y las alteraciones plaquetarias en relación al numero, como trombocitopenia, trombocitosis, etc.

VI. Conclusiones

- a. La verificación por métodos indirectos de las plaquetas permite corroborar y realizar un control de calidad de las plaquetas en la lamina periférica, también conocer las características morfológicas de las mismas.

VII. Sugerencias / recomendaciones

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Tercera **Unidad**

**Estudio de las células
sanguíneas: alteraciones de la
serie roja**

Semana 9: Sesión 2

Los reticulocitos – índice de producción medular

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 60 minutos

Docente: Unidad: 3

Nombres y apellidos:

Instrucciones

Se realizará una estricta observación de las medidas de bioseguridad durante el procesamiento de las muestras.

Se hará uso de los protocolos de trabajo desarrollados en la guía de trabajo de los procedimientos a realizar.

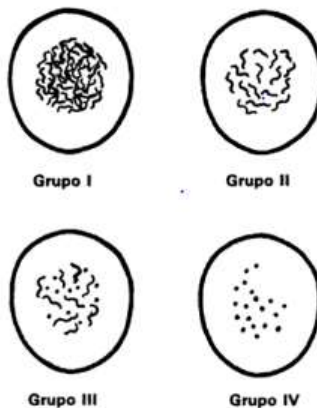
I. Propósito

Realiza el recuento de reticulocitos e interpreta el índice de producción medular

II. Fundamentos teóricos

La siguiente gráfica ilustra a los reticulocitos de acuerdo al grado de madurez

Figura 15: reticulocitos



Cálculos

1. Porcentajes de reticulocitos no corregido

$$\% \text{ RETICULOCITOS NO CORREGIDO} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de reticulocitos contados}}{\text{N}^\circ \text{ hematíes contados}} \times 100$$

Valores normales

Recién nacidos	2 – 5 %
Niños	0.5 – 4%
Hombres	0.5 – 1.5%
Mujeres	0.5 – 2.5%

2. **Valor absoluto:** Tiene mayor valor interpretativo que el conteo porcentual no corregido, porque establece el valor real de reticulocitos por volumen de sangre.

$$\text{Reticulocitos/mm}^3 = \frac{\% \text{ no corregido} \times \text{recuento de GR (mm}^3)}{100}$$

Valores normales

Adulto normal:	25,000 – 85,000 / mm ³
Recién nacidos:	100,000 – 300,000/mm ³

3. Porcentaje de reticulocitos corregidos por hematocrito :

$$\% \text{ reticulocitos corregido} = \% \text{ Reticulocitos no corregido} \times \frac{\text{Hto paciente}}{\text{Hto normal}}$$

Hematocrito normal varón = 45 %

Hematocrito normal mujer = 40 %

El recuento absoluto de reticulocitos/mm³ de sangre tiene valor de interpretación equivalente a los porcentajes obtenidos por medio de la corrección.

4. Índice de maduración reticulocitaria o índice de producción reticulocitaria

Es una corrección que se usa para el grado de anemia y también para la salida prematura de los reticulocitos de la médula hacia la sangre que ocurre debido a los altos niveles de eritropoyetina circulante. Como el exceso de eritropoyetina promueve la salida prematura de los reticulocitos hacia la sangre periférica, en lugar de circular un día circulan durante 2 ó 3 días en la sangre, trayendo como consecuencia un aumento que no corresponde a la producción diaria de reticulocitos, por ésta razón el Índice de Producción reticulocitaria expresa el aumento real de la eritropoyesis en respuesta a la eritropoyetina después de la corrección para la salida prematura de los reticulocitos de la médula.

$$\text{Índice reticulocitario} = \frac{\% \text{ CORREGIDO (PRIMERA CORRECCION)}}{\text{TIEMPO DE CIRCULACION (DIAS)}}$$

Relación del grado de anemia y duración de los reticulocitos en la circulación

HEMATOCRITO	Tiempo de vida de reticulocitos en la circulación
>40%	1 día
30 – 40%	1,5 días
20 – 30%	2 días
< 20%	2,5 días

Valores de referencia:

Adultos no anémicos : 0.5 – 1.8%

Anémicos :

En las anemias por disminución de la producción < 1.8%

Anemias hemolíticas de 1.8 a 2.9%

Aumento real de la producción medular >= 3.0%

Medición de reticulocitos en la automatización

Figura 16

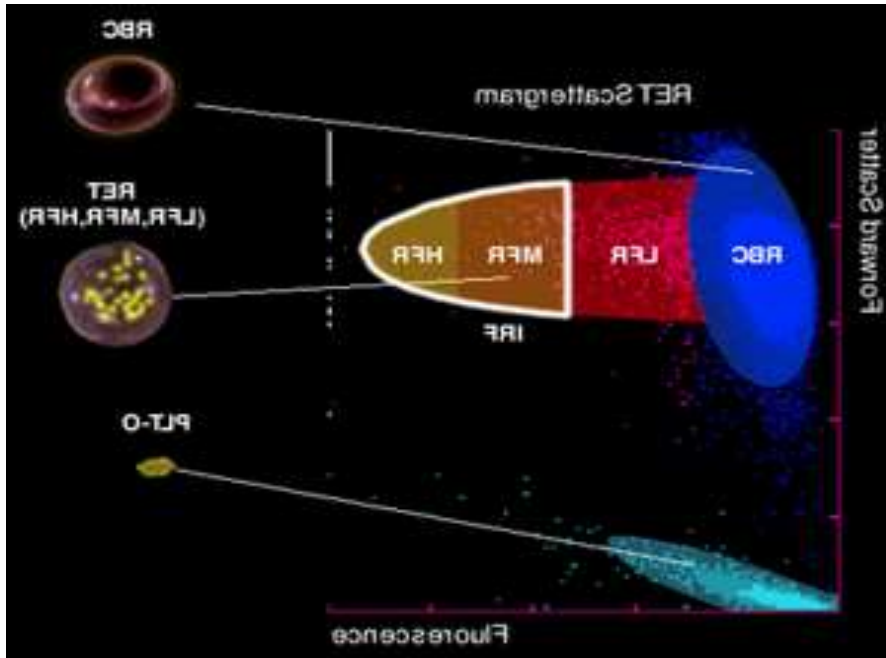


Las subpoblaciones reticulocitarias se dividen en tres fracciones de acuerdo con la magnitud de la fluorescencia en relación con su grado de madurez: fracción de baja fluorescencia (LFR), de fluorescencia intermedia (MFR) y de alta fluorescencia (HFR). La fracción de reticulocitos inmaduros (FRI) se obtiene de la suma de las fracciones reticulocitarias de media y alta fluorescencia.

Fig. Diagrama de la relación entre el número total de células rojas y la intensidad de fluorescencia luego de tñer el ARN con fluorocromo. (Tomado y modificado de Riley S, Jonathan M. Reticulocyte Enumeration: Past & Present. Laboratory medicine; 2001).⁸

Nota: tomada de Índices Eritrocitos <https://bit.ly/3SQa5Rv>

Figura 17: Reticulocitos. Evolución. Parámetros de utilidad clínica y diagnóstica



Nota: tomada de <https://www.ibcrosario.com.ar/articulos/Reticulocitos-2017.html>

III. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1 Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Equipo automatizado de hematología	5 diferenciales	1 unid.
2	Microscopios	binoculares	20 unid.
3	Baño maría	A 37°C	1 unid.

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Gradillas	Plástico y/o metal	10 unid.
2	Material de toma de muestra		20 unid.

3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Alcohol	70°	10 ml
2	Colorante wright	Filtrado	50 ml
3	Colorante azul cresil brillante	Filtrado	20 ml

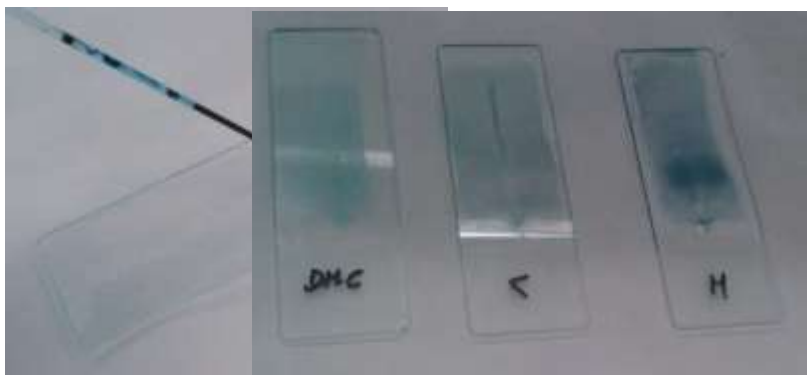
IV. Indicaciones y procedimientos

Primero: Recuento de reticulocitos

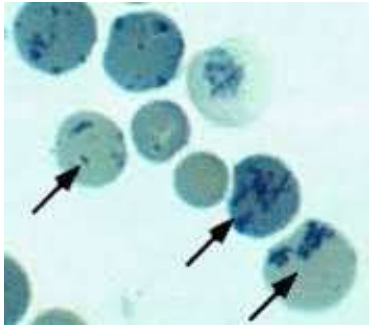
2. En un tubo de vidrio colocar con la pipeta pasteur dos gotas de sangre anticoagulada homogenizada y dos gotas de colorante, homogenizar suavemente.



4. Incubar en el baño maría por 20 minutos (depende de la madurez del colorante, si se ha preparado recientemente se coloca por más tiempo).
5. Retirar el tubo del baño maría y con la ayuda de las pipetas pasteur o de transferencia colocar una gota muy pequeña en una lámina desengrasada. Con un extensor realizar un frotis suavemente y que de preferencia sea delgado para poder observar en los campos donde los glóbulos rojos sueltos se encuentran sueltos y no superpuestos.



6. Observar en el microscopio con aceite de inmersión, de preferencia en los campos en donde se puedan observar a los glóbulos rojos sueltos (aproximadamente de 100 GR por campo)



7. Contar en 10 campos de estas características, registrando cuantos reticulocitos vemos por campo.

V. Resultados

1. El estudiante estará en la capacidad de realizar el estudio de los reticulocitos y analizar los resultados de los mismos relacionándolos con la fisiopatología de las anemias.
2. Realizará la coloración de un frotis sanguíneo y el estudio del mismo.

VI. Conclusiones

- 7.1. El índice de producción reticulocitario nos permite conocer la producción real de la médula ósea en lo referente a la serie roja.
- 7.2. Un frotis bien extendido y coloreado, nos da información importante sobre la salud hematológica del paciente.

VII. Sugerencias / recomendaciones

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Semana 10: Sesión 2

Anemias: Evaluación de las Alteraciones eritrocitarias

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 60 minutos

Docente: Unidad: 3

Nombres y apellidos:

Instrucciones

* Se realizará una estricta observación de las medidas de bioseguridad durante el procesamiento de las muestras.

* Se hará uso de los protocolos de trabajo desarrollados en la guía de trabajo de los procedimientos a realizar.

I. Propósito

Conoce y diferencia las alteraciones eritrocitarias de forma e inclusiones.

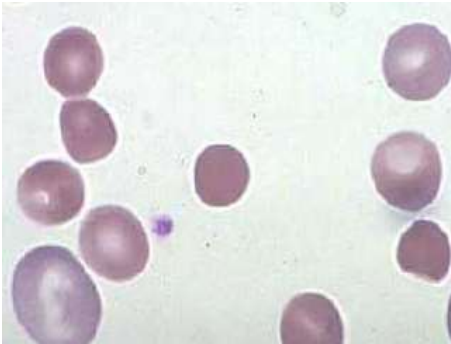
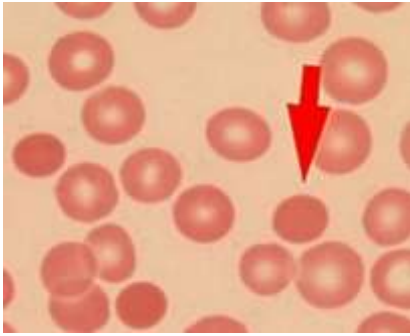
II. Fundamentos teóricos

Primero: Alteraciones de forma

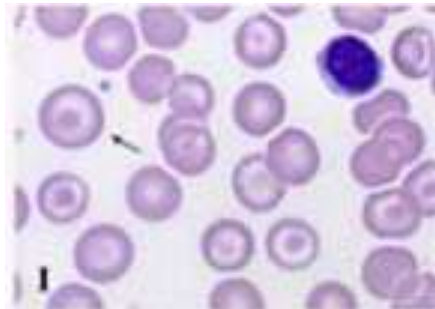
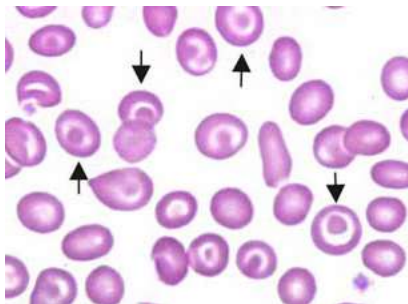
Llamadas también poiquilocitosis. Entre éstos tenemos:

Esferocitos: Células pequeñas redondas, sin palidez central, por lo general microcíticas.

Su vida media es de 14 días, producen taponamiento de los vasos sanguíneos. Se encuentran en la enfermedad esferocitosis hereditaria o enfermedad de Minkowski-Chauffard (defecto congénito de la membrana eritrocitaria). También pueden ser adquiridos por factores extraeritrocitarios.

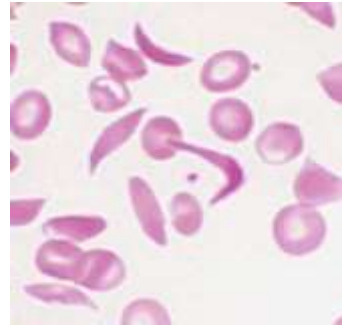
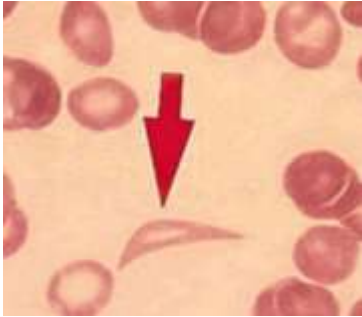


Codocitos : Llamados también dianocitos. En la región central presentan un área con mayor contenido hemoglobínico (zona densa). La interfase entre la membrana celular y el centro es transparente. Se encuentran en hemoglobinopatías, talacemias, anemia ferropénica y en algunas hepatopatías crónicas con aumento de colesterol y fosfolípidos.

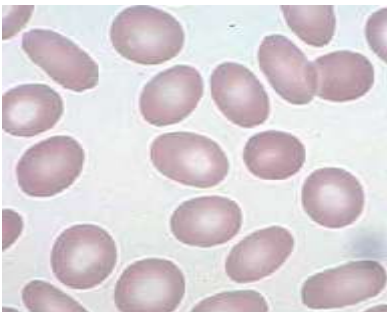
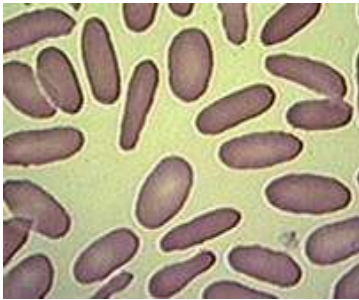


Drepanocitos: Son hematíes cuya membrana hemática se altera y se hace falciforme (forma de hoz o media luna). Su apariencia es propia del estado

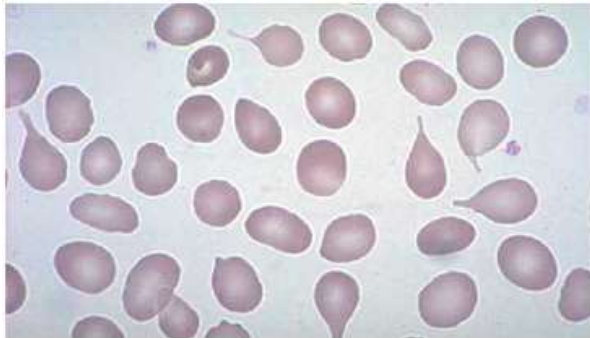
homocigoto de la hemoglobina S. Su enfermedad se conoce como drepanocitosis hereditaria.



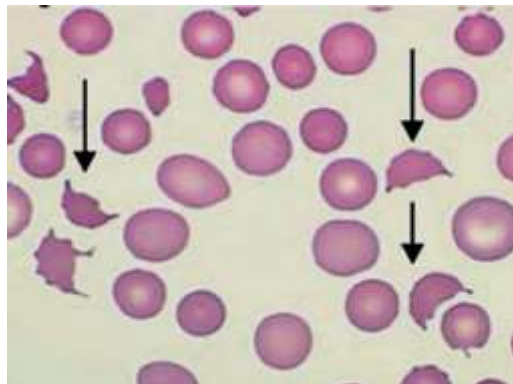
Eliptocito: Los hematíes son alargados (ovalocitos). Se encuentran en la enfermedad llamada ovalocitosis hereditaria. Su presencia se debe a una alteración congénita de la membrana del hematíe, aunque puede ser adquirida en caso de una anemia megaloblástica, ferropénica o arregenerativa.



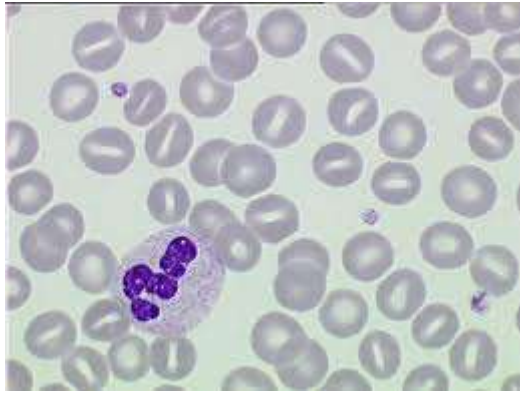
Dacriocitos: Son hematíes en forma de lágrima. Se encuentran en la anemia ferropénica, anemia megaloblástica y talasemia.



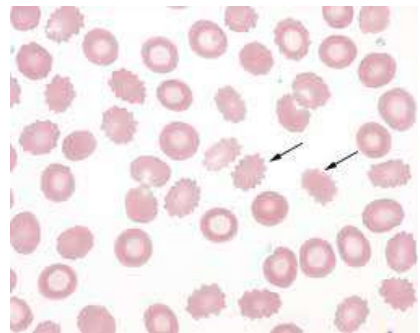
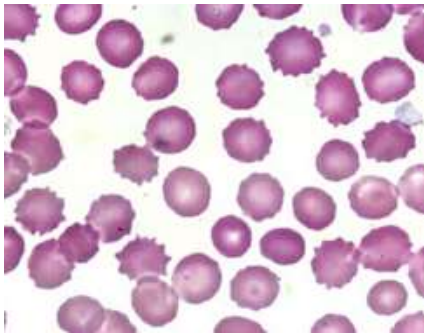
Esquistocitos: Son fragmentos hemáticos. Se encuentran en anemias hemolíticas, microangiopatías, quemaduras y con más evidencias en individuos esplenectomizados. También por traumatismos mecánicos, que ocurren en la vasculatura, en general por filamentos de fibrina o por prótesis cardiacas.



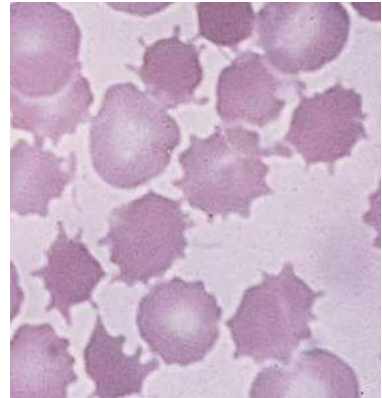
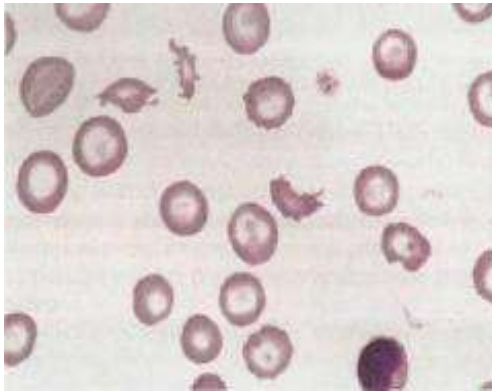
Estomatocitos: Son hematíes que en lugar de una deplesi3n central clara tienen una banda p3lida central que les da un aspecto de boca. Se hereda como car3cter autos3mico dominante. Esta enfermedad es causada por anomalía hereditaria de la membrana eritrocitaria.



Equinocitos: Las prominencias de la membrana eritrocitaria son distribuidas regularmente a lo largo de toda su superficie. Aparecen por ejemplo en uremia, cuando los hematíes son pobres en potasio y en las hepatopatías neonatales, o pueden ser artefactos.

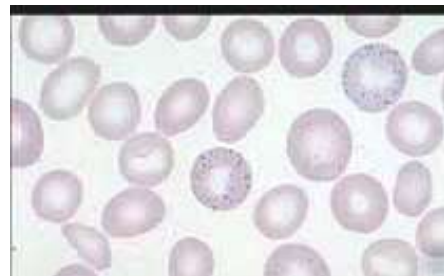
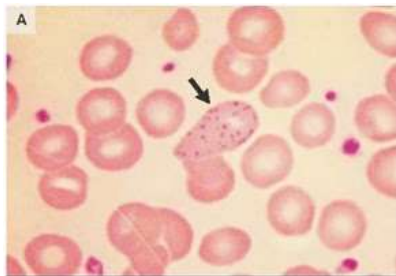


Acantocitos: Las prominencias de la membrana eritrocitaria son distribuidas irregularmente y de diferente longitud. Aparecen por ejemplo en cirrosis hepática.

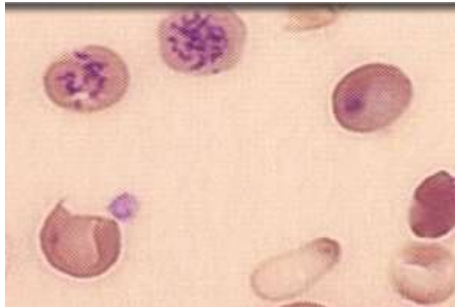


Segundo: Inclusiones eritrocitarias

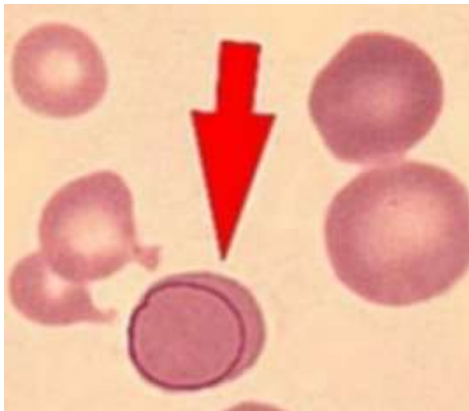
Punteado basófilo : Son gránulos basófilos presentes en el citoplasma de los hematíes. Puede tratarse de un reticulocito por su elevado contenido de ARN. Se encuentra en una intoxicación por plomo llamada saturnismo.



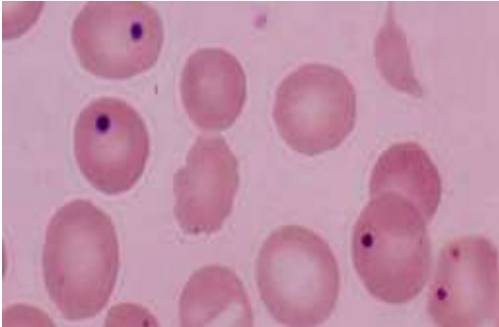
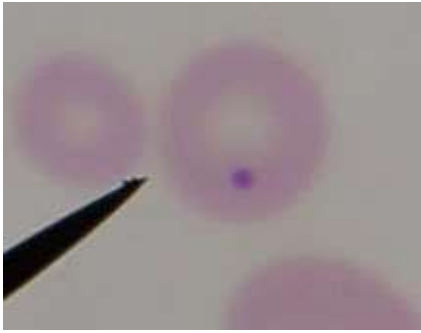
Cuerpos de Heinz: Son formaciones redondeadas de hasta 3µ de diámetro localizadas habitualmente en la periferia de la célula. Se observan con colorantes para reticulocitos. Estos cuerpos son abundantes en sujetos esplenectomizados.



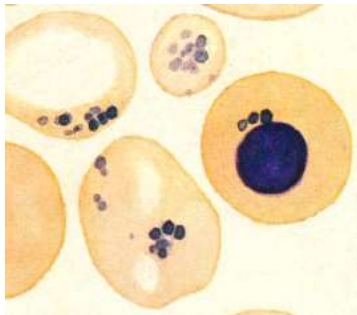
Anillos de Cabot: Se cree que sean restos de membrana nuclear eritroblástica o restos después de una mitosis anormal. Se observan en forma de anillo u ocho invertido. Pueden ser precipitados de ARN o proteína carente de importancia diagnóstica.



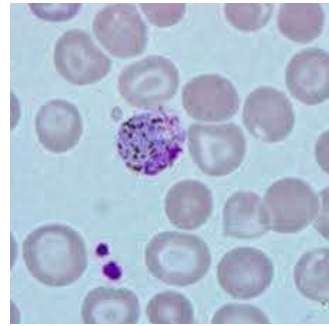
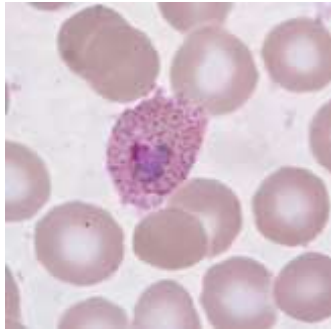
Cuerpos de Howell-Jolly: Son restos de cromatina nuclear, resultados de la pérdida del núcleo por parte del normoblasto ortocromático hasta la conversión del hematíe. Se les considera signos de regeneración celular. Se observan en pacientes esplenectomizados.



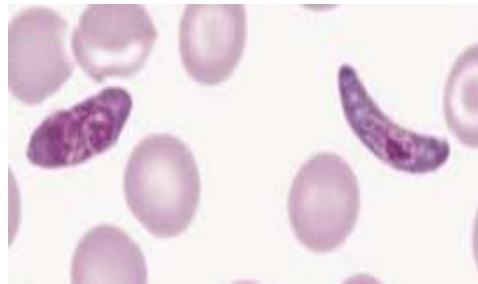
Siderocitos: Son hematíes con contenido de hierro libre no hemoglobínico de color verde azulado.



Gránulos de Shuffner: Son gránulos que presentan algunos hematíes en caso de parasitismo por plasmodium vivax.

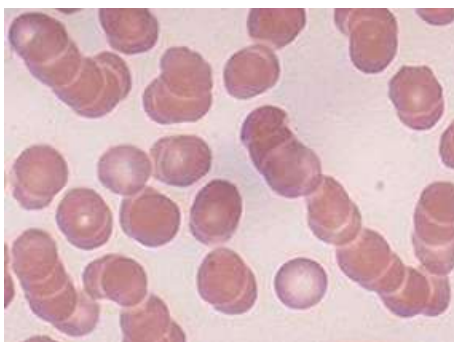


Gránulos de Maurer: Son gránulos de color violeta oscuro que se encuentran en pacientes con parasitismo por *Plasmodium falciparum*.

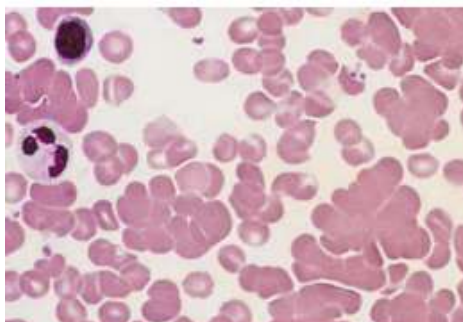


OTROS HALLAZGOS MORFOLOGICOS

Rouleaux: Es el apilamiento de los eritrocitos por disminución de la repulsión natural entre los eritrocitos altamente electronegativos. Ocurre ante la presencia de altos niveles plasmáticos de globulinas o de fibrinógeno, que neutralizan la fuerza repulsiva entre los eritrocitos. Principales causas son el mieloma múltiple, macroglobulinemia de Waldenström, crioglobulinemias.



Aglutinación eritrocitaria: son aglomerados irregulares de eritrocitos mediados por un mecanismo inmunológico. Pueden ocurrir por auto-anticuerpos en frío (crioaglutininas) en caso de anemias hemolíticas autoinmunes, algunas neoplasias o raramente en casos de hemoglobinuria paroxística al frío.



aglutinación de eritrocitos

VII. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopios	Binocular	20

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Papel lente	Papel suave y delicado	40

3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Aceite de inmersión	Sustancia oleíca	5
2	Álcohol isopropílico	Solución diluida	5

III. Indicaciones y procedimientos

1. Observar las láminas coloreadas
2. Identificar las alteraciones hematológicas, inclusiones eritrocitarias, etc.

IV. Resultados

1. El estudiante podrá reconocer las alteraciones de forma eritrocitaria.
2. Podrá diferenciar las diferentes inclusiones eritrocitarias.

V. Conclusiones

1. Las diferentes formas de los eritrocitos, tiene una causa posible de alteración.
2. Si realizamos una coloración adecuada de nuestro frotis, nos será fácil identificar las inclusiones eritrocitarias, de lo contrario los precipitados no nos permitirán apreciarlos.

VI. Sugerencias / recomendaciones

.....

.....

.....

.....

.....

Semana 11: Sesión 2

Diagnóstico diferencial de las anemias

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 60 minutos

Docente: Unidad: 3

Nombres y apellidos:

Instrucciones

- Se realizará una estricta observación de las medidas de bioseguridad durante el procesamiento de las muestras.
- Se hará uso de los protocolos de trabajo desarrollados en la guía de trabajo de los procedimientos a realizar.

I. Propósito

Conoce e identifica las alteraciones en las anemias ferropénicas y megaloblásticas.

Conoce e identifica las alteraciones en las anemias hemolíticas.

II. Fundamentos teóricos

Las anemias microcíticas tienen un VCM < 80 fl y generalmente un CHCM < 32 %, las más frecuentes son las ferropénicas y las anemias de las afecciones crónicas. Para confirmar se realiza un perfil de hierro

En las anemias macrocíticas por lo contrario tienen un VCM > 100 fl, y pueden aparecer en casos de alcoholismo, hepatopatía, etc. Si el VCM es mayor a 120 fl se denominan anemias megaloblásticas. Las anemias megaloblásticas se producen por déficit de vitamina B12 y/o ácido fólico, que provoca un defecto en la síntesis de ADN.

Las anemias hemolíticas se caracterizan por una alta destrucción de los glóbulos rojos, y la médula ósea realiza un esfuerzo mayor por compensar ésta elevada pérdida. Este tipo de anemia se pueden presentar por alteraciones en el propio glóbulo rojo como por ejemplo las membranopatías, las enzimopatías o en la hemoglobinuria paroxística nocturna, también se pueden presentar por causas inmunes, tóxicas ó infecciones. En las manifestaciones clínicas más saltantes tenemos la esplenomegalia, la ictericia, cálculos biliares, etc.

III. Equipos / Materiales Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopios	Binocular	20
2	Equipo automatizado hematología		1

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Papel lente	Papel suave y delicado	40
2	Material de toma de muestra		10 unid
3	Láminas portaobjeto		1 caja
4	Material de coloracion		5 unid.

3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Aceite de inmersión	Sustancia oleíca	10
2	Álcohol isopropílico	Solución diluida	10
3	Azul cresil brillante	colorante	5 frascos.
4	Colorante wright	colorante	5 frascos

IV.

V. Indicaciones y procedimientos

Primero: Análisis de constantes corpusculares, IPM y morfología eritrocitaria

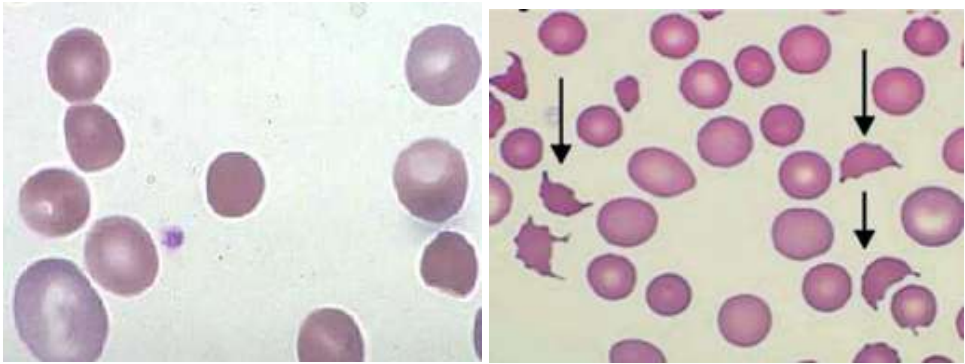
1. Observaremos los histogramas de pacientes anémicos, y los clasificaremos de acuerdo con las constantes corpusculares: VCM, CHCM, RDW, Hb, Hto, RBC.
2. Los clasificaremos morfológicamente de acuerdo con las constantes corpusculares.
3. Realizaremos los estudios de reticulocitos de los pacientes para poder realizar la clasificación fisiopatológica de los mismos.
4. A los pacientes que tengan anemias microcíticas hipocrómicas les realizaremos también un estudio del perfil de hierro, para descartar el origen ferropénico.
5. A los pacientes que presenten anemias de tipo macrocíticas, se les realizará un estudio de vitamina B12 y/o ácido fólico.
6. También se realizará un estudio citomorfológicos de los eritrocitos, para poder observar las alteraciones de los glóbulos rojos y sus inclusiones más frecuentes y que nos ayuden a diferenciar las anemias en estudio.
7. Realizaremos las exposiciones de los casos estudiados.

Segundo: Anemias hemolíticas

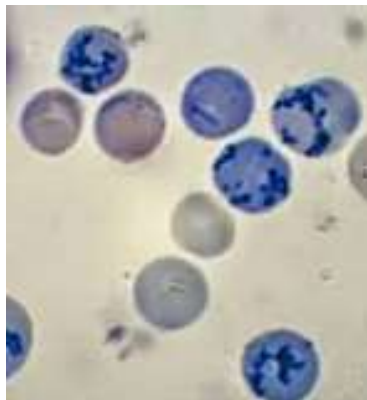
8. Observaremos los histogramas de pacientes anémicos, y los clasificaremos de acuerdo a las constantes corpusculares: VCM, CHCM, RDW, Hb, Hto, RBC.

Generalmente observaremos normocitosis y normocromía, a diferencia de la esferocitosis hereditaria que podríamos ver VCM bajo y CHCM alta.

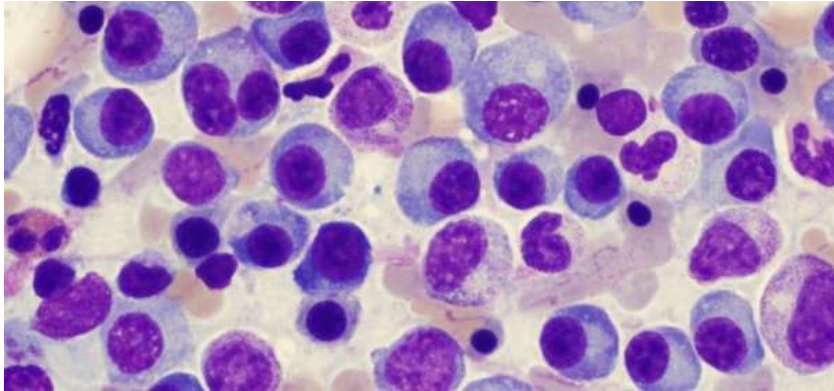
9. Observaremos la morfología eritrocitaria



10. Realizaremos los estudios de reticulocitos de los pacientes para poder realizar la clasificación fisiopatológica de los mismos. También realizaremos los cálculos de Índice de Producción Reticulocitaria.



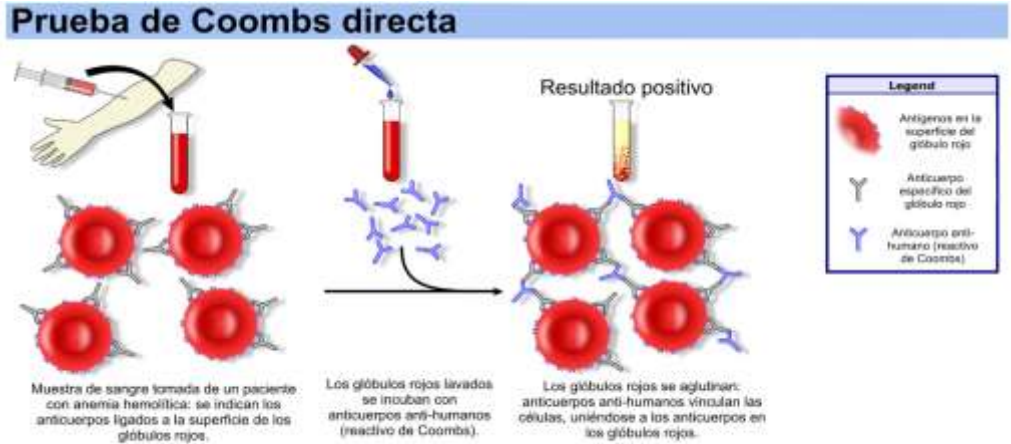
11. Si observamos la presencia de hematíes nucleados sería muy importante realizar su recuento, llegando incluso si existe un porcentaje considerable a realizar el cálculo de leucocitos verdaderos.



12. Los estudios bioquímicos también son muy importantes, y tendríamos que realizar las bilirrubinas totales y fraccionadas, el LDH y las haptoglobinas.
13. El estudio del coombs directo es muy importante.
14. También se realizará un estudio citomorfológicos de los eritrocitos, para poder observar las alteraciones de los glóbulos rojos y sus inclusiones más frecuentes y que nos ayuden a diferenciar las anemias en estudio.
15. Realizaremos un conversatorio sobre los casos estudiados.

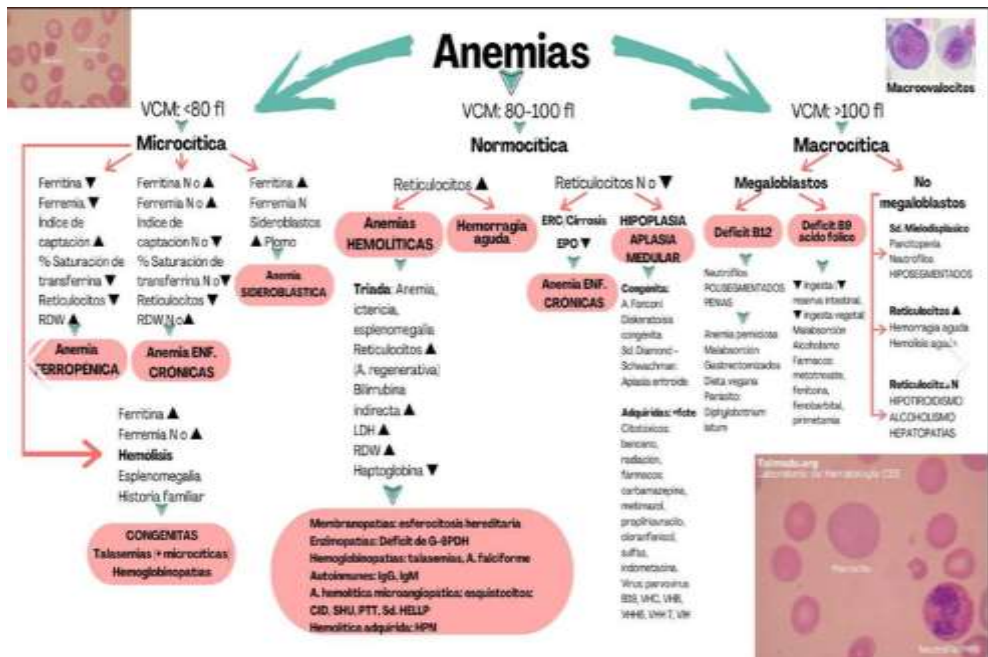
Figura: Prueba de Coombs directa

Figura 18. Prueba de coombs directa



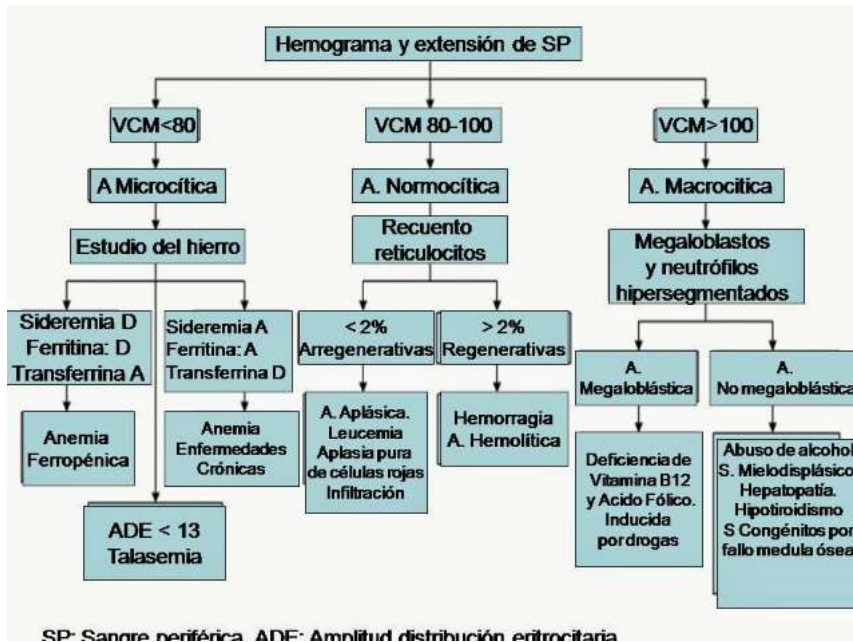
Nota: tomada de Test de Coombs <https://pipetealo.wordpress.com/2017/03/09/test-de-coombs/>

Figura 19. Anemias



Nota: tomada de Docz: <https://www.udocz.com/apuntes/525984/anemias>

Figura 20. Mapa conceptual de Hemograma



Nota: toma de Anemia en uci <https://es.slideshare.net/slideshow/anemia-en-uci-p-2/16678135#5>

VI. Resultados

- a. El estudiante tendrá la capacidad de diferenciar y caracterizar a las anemias microcíticas.
- b. El estudiante tendrá la capacidad de diferenciar y caracterizar a las anemias macrocíticas.
- c. El estudiante tendrá la capacidad de diferenciar y caracterizar a las anemias normocíticas

VII. Conclusiones

- 7.1 Para poder concluir que un paciente presenta una anemia microcítica hipocrómica y ésta sea de tipo ferropénico, se le tiene que confirmar mediante un perfil de hierro.
- 7.2 De igual forma si el paciente con anemia macrocítica y presenta neutrófilos hipersegmentados, pensaríamos en una megaloblástica y se realizará un dosaje de vitamina B12 y ácido fólico.
- 7.3 Se tiene que realizar una serie de estudios para diferenciar la anemia hemolítica, observar la morfología eritrocitaria, análisis bioquímicos y el coombs directo.

VIII. Sugerencias / recomendaciones

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Semana 12: Sesión 2

Taller: diagnóstico laboratorial de las anemias

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 180 minutos

Docente: Unidad: 3

Nombres y apellidos:

Instrucciones

- Tener en cuenta el cumplimiento de las normas de bioseguridad,
- El taller se trabajará formando grupos de trabajo para el desarrollo de los casos clínicos relacionados a anemias

I. Propósito

Aplicar los conocimientos aprendidos en el diagnóstico de las anemias.

II. Fundamentos teóricos

La anemia es un tema de salud importante en la población mundial, afecta a cada clase étnica y estrato social. El laboratorio juega un papel decisivo proporcionando al médico los datos que definen la causa y determinan el tratamiento de esta condición. La clasificación morfológica está basada en los índices de los glóbulos rojos, mientras que la clasificación fisiológica está basada en la respuesta de la médula ósea.

III. Equipos / Materiales

No se hará uso por ser de taller de resolución de casos clínicos.

IV. Indicaciones y procedimientos

Primero: Resuelva los siguientes casos

Un paciente varón, acude a la emergencia con palidez, decaimiento, fatiga, al solicitarle sus análisis hematológicos le dieron los siguientes resultados:

Hb : 3.5 gr% Hto : 12% RGR : 2 300 000 pmmc
Reticulocitos : 59 en 10 campos

1.1. Calcule las constantes corpusculares:

VCM =

HCM =

CHCM =

1.2. ¿Cuál es la clasificación morfológica de la anemia?

.....
.....

1.3. Calcule el IPM

.....

1.4. ¿Cuál es la clasificación fisiopatológica de la anemia?

.....
.....

1.5. ¿Cuál podría ser la/las probable(s) causa de la anemia?

.....
.....
.....

1.6. Mencione las principales causas de hipocromía y microcitosis

.....
.....
.....

1.7. ¿Cuáles son las principales características de laboratorio que las diferenciaría entre ellas?

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

2. Paciente mujer de 3 años, con 18 kilos, consulta por palidez e ictericia desde hace un año, aproximadamente. Al examen es una niña orientada en espacio, tiempo y persona, con palidez, de piel y mucosas. Ictericia conjuntival. Se palpa bazo a 4 cm debajo del reborde costal izquierdo.

Su hemograma es como sigue:

Leucocitos	14,800 x mm ³	Glóbulos Rojos	2'220.000 x mm ³
Neutrófilos	66 %	Hemoglobina	6.75 g / dL
Linfocitos	30%	Hematocrito	20.6 %
Basófilos	2 %	Reticulocitos	17 %
Monocitos	1%	RDW	22.1
Eosinófilos	1%		
Plaquetas	362,000 x mm ³	VMP	6.11 fL
En el frotis se observan			
Macroцитos	10 %	Policromatofilia	2.5 %
Normoblastos	5 %.	Células falciformes	2 %

2.1. Calcule las constantes corpusculares:

VCM =
HCM =
CHCM =

2.2. ¿Cuál es la clasificación morfológica de la anemia?

.....
.....

2.3. Calcule el IPM.....

.....

2.4. ¿Cuál es la clasificación fisiopatológica de la anemia?

.....
.....

2.5. ¿Cuál podría ser la causa de la anemia?.....

.....
.....
.....

2.6. ¿Cómo está la eritropoyesis de la paciente?

.....
.....

2.7. ¿Cómo confirmaría su diagnóstico?

.....
.....
.....
.....
.....
.....

3. Paciente de 38 años de edad con ictericia desde la edad de 6 años, colecistectomizada hace 8 años por litiasis vesicular. Hospitalizada hasta 4 veces por anemia. Al examen ictericia conjuntival leve, palidez de piel y mucosas y esplenomegalia (4 cm debajo del reborde costal.derecho).

Su hemograma es como sigue

Leucocitos	6,320 x mm ³	Neutrófilos	58 %
Linfocitos	32 %	Monocitos	6 %
Eosinófilos	3 %	Basófilos	1 %
Glóbulos Rojos	2´640,000 x mm ³	Hemoglobina	8.26 g/dl
Hematocrito	21.6	VMC	81.7
HMC	31.4	CHMC	38.4
RDW	20.3	Plaquetas	229,000 x mm ³
VMP	5.74 fL	Reticulocitos	37 %
Macroцитosis	15 %	Esferocitos	16 %

3.2 ¿Cuál es la clasificación morfológica de la anemia?

.....
.....
3.3 Calcule el IPM
.....
.....

3.4 ¿Cuál es la clasificación fisiopatológica de la anemia?
.....
.....

3.5 ¿Cuál podría ser la causa de la anemia?
.....
.....
.....

3.6 ¿Cómo confirmaría su diagnóstico?
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

4. Paciente mujer, post menopáusica, de 50 años de edad, con enfermedad de aproximadamente un año de evolución, con episodios de melena y desde hace dos meses baja de peso y palidez. Desde ayer con episodios diarreico de ha mejorado. Al examen palidez de piel y mucosas. Resto no contributorio. PICA 1 + (deseo de comer tierra y jabón).

Su hemograma es como sigue:

Leucocitos	6,000 x mm ³	Neutrófilos	58 %
Linfocitos	31%	Monocitos	6 %
Eosinófilos	5 %	Basófilos	0 %
Glóbulos Rojos	3´410,000 x mm ³	Hemoglobina	6.8 g/dL
Hematocrito	21.8 %	VMC	64 fl
HMC	19.8	CHMC	31mg/dl
RDW	12.4%		

4.1. ¿Cuál es la clasificación morfológica de la anemia?
.....
.....
.....

4.2. Calcule el IPM
.....
.....

4.3. ¿Cuál es la clasificación fisiopatológica de la anemia?
.....
.....
.....

4.4. ¿Cuál podría ser la causa de la anemia?.....
.....
.....
.....
.....

.....

4.5. ¿Cómo confirmaría su diagnóstico?

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

5. Paciente de 20 años, que presenta hace dos semanas fiebre, cefalea y desde hace una semana palidez e ictericia. Al examen se le nota pálida, desorientada, con palidez, petequias en el cuerpo e hiperreflexia

Su hemograma es como sigue

Leucocitos	17,600 x mm ³	Neutrófilos	82 %
Linfocitos	10 %	Monocitos	8 %
Eosinófilos	0 %	Basófilos	0 %
Glóbulos Rojos	1'840,000 x mm ³	Hemoglobina	6.6 g/dL
Hematocrito	18.8 %	VMC	102 fL
HMC	35.8 pg	CHMC	35 g / dL
RDW	21.5	Plaquetas	12,500 x mm ³
VMP	12 fL	Reticulocitos	16 %
Macrocitosis	10 %	Esferocitos	02 %
Policromatofilia	10 %	Esquistocitos	12 %

5.1. Cuál es la clasificación morfológica de la anemia?

.....

.....

.....

5.2. Calcule el IPM

.....

5.3. ¿Cuál es la clasificación fisiopatológica de la anemia?

.....

5.4. ¿Cuál podría ser la causa de la anemia?

.....

.....

.....

5.5. ¿Cuáles son las principales causas de esquistocitosis?

.....

.....

.....

5.6. ¿Cómo confirmaría su diagnóstico?

.....

.....
.....
.....
.....
.....

6. Paciente de 39 años, primigesta de 30 semanas de gestación, con antecedente de anemia crónica antes del embarazo sin mejoría pese a terapia con hierro. Hace 2 meses presenta cansancio, disnea al esfuerzo cuando camina una cuadra, cefalea y mareos. Recibe venofer EV en 4 oportunidades sin mejoría. Tres días antes del ingreso se detecta anemia y trombocitopenia por lo que es hospitalizada. Su hemograma es como sigue:

Leucocitos	2,780 x mm ³	Neutrófilos	28 %
Linfocitos	62 %	Monocitos	8 %
Eosinófilos	1 %	Basófilos	1 %
Glóbulos Rojos	x mm ³	Hemoglobina	3.56 g/dL
Hematocrito	12.4 %	VMC	102 fL
HMC	29.3 pg	CHMC	28.7 g / dL
RDW	18 %	Normoblastos	3 %
Reticulocitos	2.5 %	Plaquetas	70,000 x mm ³
VMP	fL	Coombs directo	Negativo
Ferritina Sérica	91 ng / mL		
Vitamina B12	528 (VN 160 a 970)	Acido Fólico	23.7 ng/ml (VN 3-15)
Esquistocitos	6 %	Medula Osea	Hipoplasia 10 %
Megacariocitos	1 por cada 2 a 3 espículas.		

6.1. ¿Cuál es la clasificación morfológica de la anemia?

.....
.....
.....

6.2. Calcule el IPM

.....

6.3. ¿Cuál es la clasificación fisiopatológica de la anemia?

.....

6.4. ¿Cuál podría ser la causa de la anemia?

.....
.....
.....

6.5. ¿Cuáles son los criterios diagnósticos del síndrome de Hellp?.....

.....
.....

IPM PARA NIÑOS HASTA LOS 8 AÑOS Y LACTANTES

HEMATOCRITO	FACTOR
35	1
30	1.25
25	1.5
20	1.75
15	2.0
10	2.25
5	2.5

Mujer	Factor	Varón
40	1	45
30	1.5	35
20	2.0	25
10	2.5	15
0	3.0	5

V. Resultados

- El estudiante será capaz de evaluar casos clínicos referentes a anemias.

VI. Conclusiones

- Las anemias son patologías muy frecuentes en el laboratorio de hematología y/o emergencia, por lo cual debemos de conocer a profundidad la fisiopatología y diagnóstico clínico-laboratorial.

VII. Sugerencias / recomendaciones

.....

.....

.....

.....

.....

Cuarta **Unidad**

El Laboratorio en la Hemostasia

Semana 13: Sesión 2

El laboratorio en la hemostasia

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 60 minutos

Docente: Unidad: 4

Nombres y apellidos:

Instrucciones

Se realizará una estricta observación de las medidas de bioseguridad durante el procesamiento de las muestras.

Revise su guía de trabajo minuciosamente, se detallan los procedimientos

I. Propósito

Realiza correctamente las pruebas de coagulación

II. Fundamentos teóricos

El laboratorio juega un papel crucial en la hemostasia, que es el proceso mediante el cual se detiene el sangrado y mantiene la fluidez de la sangre dentro de los vasos sanguíneos. Presentamos algunas de las razones por las que es tan importante:

Diagnóstico de Trastornos Hemorrágicos y Tromboembólicos: Las pruebas de laboratorio permiten identificar trastornos de la coagulación, como la hemofilia, la enfermedad de von Willebrand, y la trombofilia. Estos trastornos pueden causar sangrados excesivos o la formación inadecuada de coágulos.

Monitoreo de Tratamientos Anticoagulantes: Los laboratorios realizan pruebas para monitorear la eficacia de los tratamientos anticoagulantes, como la warfarina y la heparina, y ajustar las dosis según sea necesario para prevenir complicaciones como trombosis o hemorragias.

Evaluación Preoperatoria: Antes de cirugías o procedimientos invasivos, las pruebas de hemostasia son esenciales para evaluar el riesgo de sangrado y tomar las precauciones necesarias.

Detección de Enfermedades Hepáticas: Las pruebas de coagulación también

pueden detectar enfermedades hepáticas, ya que el hígado produce muchos de los factores de coagulación.

Investigación de Causas de Sangrado Anormal: Cuando un paciente presenta sangrados anormales, las pruebas de laboratorio ayudan a determinar si la causa es un problema con las plaquetas, los factores de coagulación, o ambos.

Control de Terapias Antiplaquetarias: En pacientes que reciben terapias antiplaquetarias, como la aspirina, las pruebas de laboratorio son importantes para asegurar que el tratamiento está funcionando correctamente sin causar efectos secundarios adversos.

En resumen, el laboratorio es fundamental para el diagnóstico, monitoreo y manejo de los trastornos de la hemostasia, asegurando que los pacientes reciban el tratamiento adecuado y se minimicen los riesgos de complicaciones

III. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Equipo automatizado de hematología	5 diferenciales	1 unid.
2	Microscopios	binoculares	20 unid.
3	Baño maría		1 unid.
4	coagulometro		1 unid.

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	lancetas	Descartables	20 unid.
2	cronómetro		5 unid.
3	Tubos con EDTA	4 ml	20 unid.
4	Papel filtro	Tiras de 1 cm x 4 cm	10 unid.
5	Agujas	21 x 1	20 unid.
6	algodón		50 Gr
7	Tubos de vidrio	Muy limpios	50 unid.
8	Tubos con citrato de sodio	4 ml	20 unid.
9	Agujas	21 x 1	20 unid.
10	Cups para coagulómetro		50 unid.
11	Pipetas automáticas	50 – 100 ul	10 unid.
12	Tips azules		20 unid
13	Tips amarillos		20 unid
14	Adaptadores toma muestra		10 unid.
15	Tubos al vacío sin anticoagulante	4 ml o 6 ml	10 unid

3.3. Reactivos

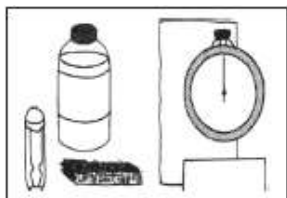
Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Alcohol	70°	10 ml

2	Reactivos para tiempo de protrombina y tromboplastina parcial activada	Frascos	3 unidad
---	------------------------------------------------------------------------	---------	----------

IV. Indicaciones y procedimientos

Primero: Tiempo de sangría

1. Limpie con suavidad el lóbulo de la oreja utilizando una pieza de algodón embebida en alcohol. No frote. Déjese secar.



2. Haga la incisión en el lóbulo de la oreja con cierta profundidad, al mismo tiempo cronometrar. La sangre deberá fluir libremente sin que se necesite exprimir el lóbulo de la oreja.
3. Después de 30 segundos. Recoja la primera gota de sangre en una esquina del papel secante. No toque la piel con el papel.
4. Espere otros 30 segundos y recoja la segunda gota de sangre con el papel secante, un poco más adelante de la primera, y luego cada 15 segundos.



5. Cuando las gotas de sangre dejen de fluir, detener el cronómetro (o anote el tiempo transcurrido según el reloj), o contar el número de gotas recogidas en el papel secante.

Resultados

Comunique el tiempo de sangrado expresando en minutos y segundos.

Observaciones

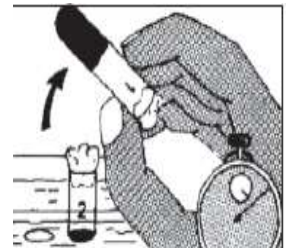
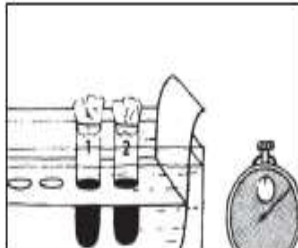
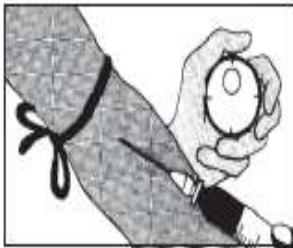
Si el tiempo de sangrado se prolonga examine una extensión de sangre teñida según el método de Romanowski para observar si las plaquetas son escasas.

Interpretación del resultado

El valor de referencia del tiempo de sangría según este método es de 1 a 4 minutos.

Segundo: Tiempo de coagulación

1. Mediante una jeringa de material plástico extraiga poco más de 3 mL de sangre venosa, puncione la vena rápidamente, de la manera adecuada. Cronometrar el tiempo desde el momento que la sangre al tubo.
2. Colocar en baño maría a 37 °C.



3. Después de 3 a 5 minutos sacar el primer tubo del baño maría. Inclinarse hacia un plano de 90° en rotación a intervalos de 30 segundos hasta que la sangre coagule (la sangre no fluye cuando el tubo está en posición horizontal)
4. Examine el segundo tubo inmediatamente después que haya coagulado la sangre del primero, lo que por lo general es inmediato. Cronometrar. Se notifica como tiempo de coagulación la media de los dos tubos. El tiempo normal de coagulación en tubo es de 5 a 15 minutos a 37 °C.

Interpretación

♦ El tiempo de coagulación está prolongado cuando hay severa deficiencia de todos los factores de coagulación, excepto en la trombocitopenia y deficiencia de factor VII o XIII. También está prolongado en presencia de heparina o anticoagulantes circulantes endógenos. Un tiempo de coagulación normal no excluye un desorden de la hemostasia.

Tercero: Tiempo de protrombina

- Colocar el plasma (desconocido o control) en baño de agua a 37°C durante 2-3 minutos.
- En un tubo de vidrio, colocar 0,2 ml de Reactivo reconstituido y preincubar a 37°C durante 2-3 minutos.
- Pipetear 100 ul del plasma preincubado, disparando simultáneamente el cronómetro.
- Mantener el tubo dentro del baño y cerca de una fuente de luz. Previo al tiempo estimado de coagulación, sacar el tubo del baño, inclinar suavemente

una o dos veces por segundo y detener el cronómetro en el momento de la aparición del coágulo.

- Calcular el tiempo promedio de coagulación de la determinación por duplicado para cada plasma (desconocido o control). Si la diferencia entre los replicados de una misma muestra es mayor del 5%, se aconseja repetir el procedimiento desechando los valores anteriores.
- En caso de emplear un instrumento de medición, deben seguirse las instrucciones del fabricante del mismo.

➤ **Valores de referencia**

Tiempo de Protrombina o Tiempo de Quick: 10 - 14 seg

Cuarto: Tiempo de tromboplastina parcial activada

- Precalear el Reactivo B antes de realizar la prueba en baño de agua a 37o C.
- En un tubo de vidrio colocar: Muestra (plasma desconocido o control) y 100 ul Reactivo A (homogeneizado) 100 ul
- Mezclar e incubar 3 minutos a 37o C,
- Luego agregar: Reactivo B (a 37o C) 100 ul
- Disparar simultáneamente un cronómetro. Agitar brevemente para homogeneizar el contenido, mantener en el baño unos 25 segundos. Luego sacar el tubo del baño, inclinar suavemente una vez por segundo y detener el cronómetro en el momento de la formación del coágulo. Tomar nota del tiempo de coagulación.

Valores de referencia

33 - 48 seg

V. Resultados

- a. El alumno será capaz de realizar e interpretar las pruebas del perfil de hemostasia-

VI. Conclusiones

- a. El perfil de hemostasia es fundamental en el diagnostico de las alteraciones de la hemostasia.

VII. Sugerencias / recomendaciones

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Semana 14: Sesión 2

Taller: hemostasia y trastornos de la coagulación

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 60 minutos

Docente: Unidad: 4

Nombres y apellidos:

Instrucciones

Para el desarrollo de la práctica se formarán grupos de trabajo.

Revise minuciosamente los casos clínicos entregados por su docente y evalúe la solución de los mismos.

I. Propósito

Aplique los conocimientos adquiridos en referencia a hemostasia a la solución de los casos clínicos.

I. Fundamentos teóricos

La hemostasia es un proceso vital que permite detener el sangrado y mantener la fluidez de la sangre dentro de los vasos sanguíneos. Aquí te explico su importancia y los trastornos de la coagulación asociados:

Prevención de Hemorragias: La hemostasia asegura que, cuando se produce una lesión en un vaso sanguíneo, el sangrado se detenga rápidamente mediante la formación de un coágulo. Esto es crucial para evitar pérdidas excesivas de sangre.

Mantenimiento de la Fluidez Sanguínea: Además de detener el sangrado, la hemostasia mantiene la sangre en estado líquido dentro de los vasos, evitando la formación de coágulos innecesarios que podrían obstruir el flujo sanguíneo.

Trastornos de la Coagulación

Hemofilia: Es un trastorno genético en el que la sangre no coagula adecuadamente debido a la falta de ciertos factores de coagulación. Esto puede llevar a hemorragias prolongadas y espontáneas.

Enfermedad de von Willebrand: Es otro trastorno hereditario que afecta la capacidad de la sangre para coagularse correctamente. Las personas con esta enfermedad tienen deficiencia o disfunción del factor von Willebrand, una proteína esencial para la coagulación.

Trombofilia: Es una condición en la que hay una tendencia anormal a formar coágulos sanguíneos (trombosis). Esto puede llevar a complicaciones graves como embolias pulmonares, accidentes cerebrovasculares y ataques cardíacos³.

Coagulopatía por COVID-19: La infección por SARS-CoV-2 ha mostrado una alta incidencia de coagulopatía, caracterizada por la formación de coágulos en los pulmones y otros órganos, lo que aumenta la mortalidad en pacientes graves².

Evaluación y Monitoreo

Las pruebas de coagulación son esenciales para diagnosticar y monitorear estos trastornos. Incluyen el tiempo de protrombina (TP), el tiempo parcial de tromboplastina (TPT), el recuento de plaquetas, y la medición de fibrinógeno y dímero D1.

En resumen, la hemostasia es fundamental para la supervivencia y la salud general, y los trastornos de la coagulación requieren una evaluación y manejo cuidadosos para prevenir complicaciones graves.

II. Equipos / Materiales

No se hará uso de ningún material por ser el trabajo grupal y se realizara la resolución de casos clinicicosl

III. Indicaciones y procedimientos

El docente hará entrega de casos clínicos relacionados a hemostasia

y trastornos de la coagulación, a fin de que sean evaluados por los estudiantes en forma grupal, finalmente realizaran

IV. Resultados

- a. El estudiante será capaz de interpretar los resultados de las pruebas de hemostasia

V. Conclusiones

- a. El laboratorio en la hemostasia, es una subsección de hematología, que permite conocer la causa del sangrado y trastornos hemostáticos, sirviendo de gran ayuda en el diagnóstico clínico y el tratamiento oportuno, también participamos en el monitoreo del tratamiento.

VI. Sugerencias / recomendaciones

.....

.....

.....

.....

Semana 15: Sesión 2

Hemograma automatizado, coagulometría.

Control de calidad.

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 60 minutos

Docente: Unidad: 4

Nombres y apellidos:

Instrucciones

Se realizará una estricta observación de las medidas de bioseguridad durante el procesamiento de las muestras.

Revise los protocolos de trabajo de los procedimientos a realizar.

I. Propósito

Realiza correctamente el procesamiento e interpretación del hemograma automatizado y coagulometría, así mismo interpreta el control de calidad

II. Fundamentos teóricos

Los equipos automatizados determinan múltiples parámetros, algunos de ellos son medidos y otros calculados. Es muy importante conocer la tecnología para saber interpretar adecuadamente los resultados, porque los modelos de analizadores van mejorando constantemente, es imposible estudiarlos, y lo mejor que podríamos hacer es visitar su página Web para conocer las novedades de sus equipos.

III. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Equipo hematológico automatizado		1 unid.
2	coagulómetro		1 unid.

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Agujas	21 x 1	6 unid.
2	algodón		50 gr
3	Tubos con EDTA	4 ml	12 unid.
4	Tubos con citrata useiiiiiii		
5	Adaptadores toma de muestra	descartables	6 unid.

3.3.Reactivos

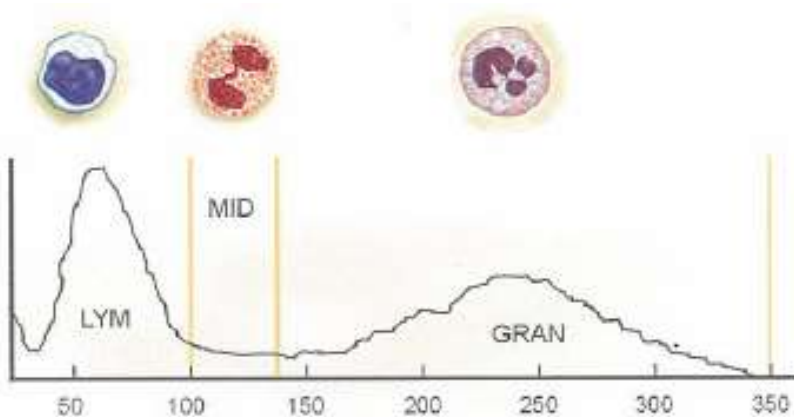
Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Alcohol	70°	10 ml
2	Reactivos de control de calidad para con		

3.2 Materiales

IV. Indicaciones y procedimientos

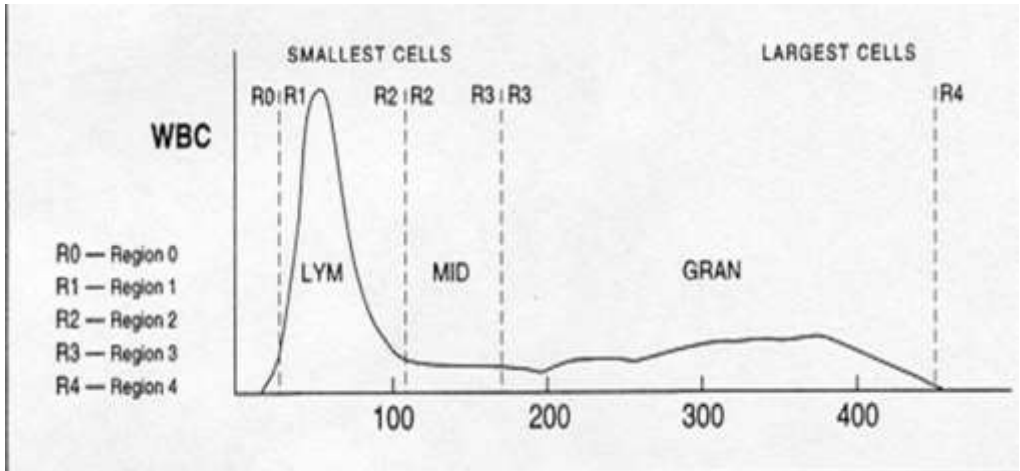
a. Interpretación de histogramas y scatergramas

Figura 21. histograma



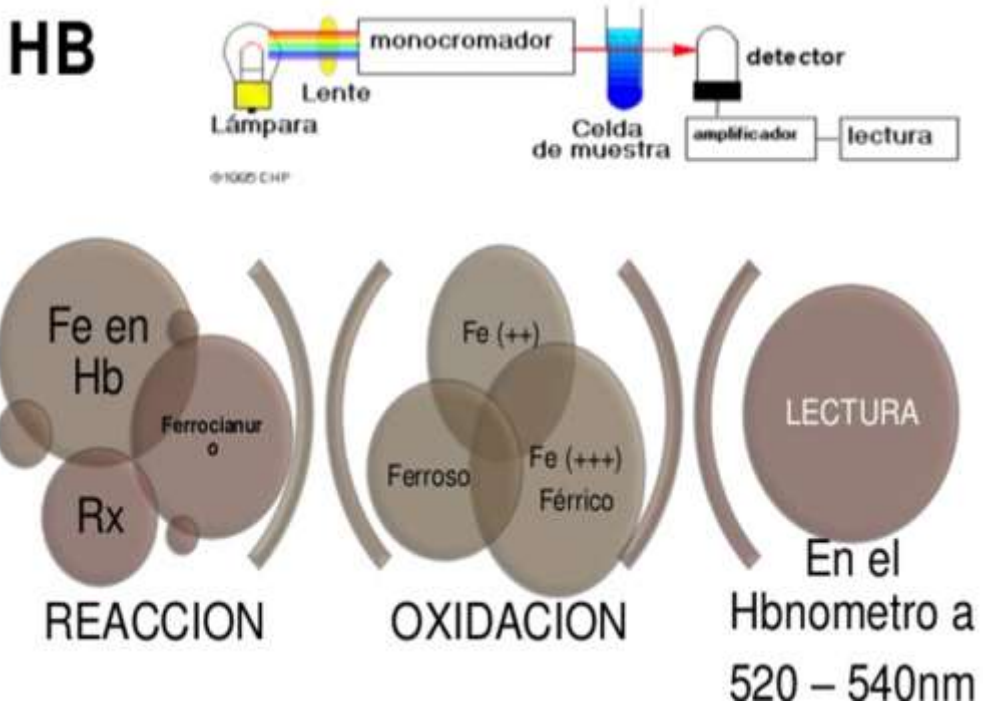
Nota: Tomada de Blog del Laboratorio <https://laboratorioareaclinica.blogspot.com/> (2017)

Figura 22. Histograma WBC



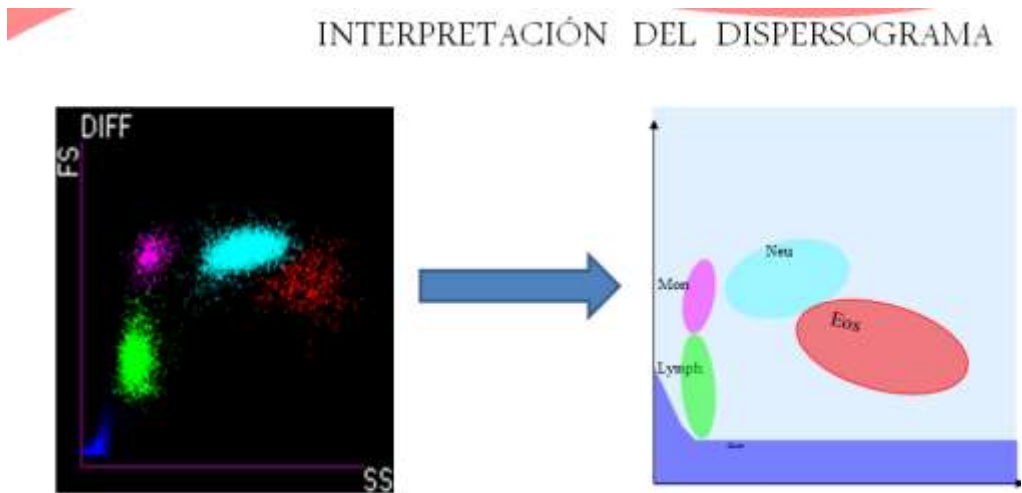
Nota: Tomada de Clinical Evaluation of the Cell-Dyn® 1700CS Blood Counter – Scientific <https://bit.ly/45RFaJS>

Figura 23. Proceso de Detección de Hemoglobina



Nota: tomada de Andres Valle Gutierrez <https://bit.ly/3W4xmjx>

Figura 24. Interpretación del dispersograma



FS : Frontal Scatter / Dispersión Frontal / Información sobre el Tamaño celular

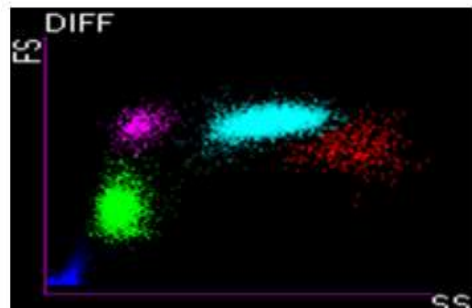
SS : Side Scatter / Dispersión Lateral / Información sobre Complejidad Celular

Nota: tomada de Javier Quiroz <https://bit.ly/3ROF8MP> (2013)

DISPERSOGRAMA / SCATTERGRAMA

DEFINICIÓN

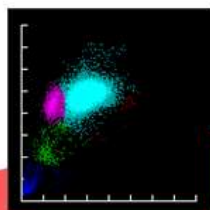
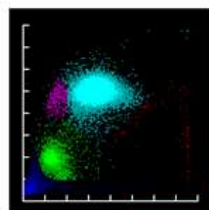
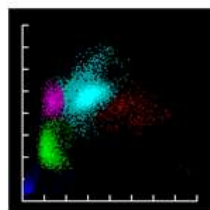
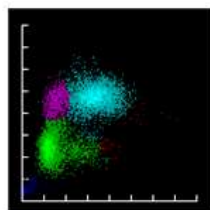
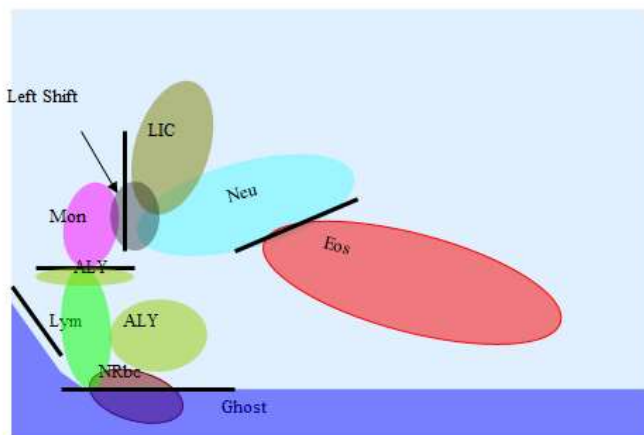
Gráfico estadístico que representa la distribución de dos variables en una muestra. Una variable se representa gráficamente en el eje vertical; la otra en el horizontal. Un dispersograma demuestra el grado o tendencia de presentación de las variables en relación mutua.



Nota: tomada de Javier Quiroz <https://bit.ly/3ROF8MP> (2013)

Figura 25. Muestras anormales: Banderas

Muestras Anormales: Banderas



HISTOGRAMA DE PLAQUETAS

Un gráfico que siga la línea roja debe interpretarse como posible agregación plaquetaria (el origen intra o extravascular de la misma no puede determinarse) o con un aumento en el número de plaquetas grandes, fragmentos celulares (membranas de glóbulos rojos)

Un gráfico que siga la línea verde debe interpretarse como interferencia producida por microcitos marcada, glóbulos rojos de menos de 30 fL (recordar que tanto plaquetas como glóbulos rojos se miden por impedancia en una misma cámara y de manera simultánea.)

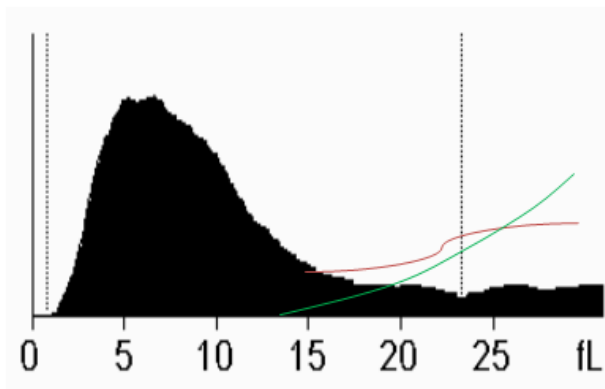
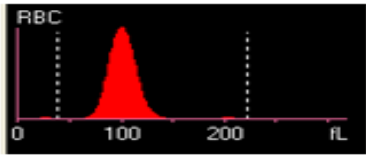
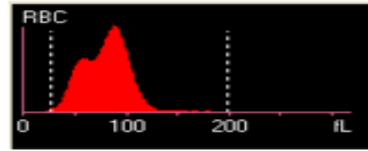


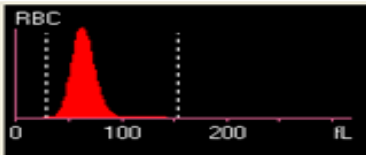
Figura 26. Casos



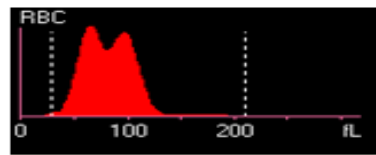
Normal people, the RBC histogram shape is in perfect Gaussian distribution.



Dimorphologic RBC histogram, indicating anisocytosis. From a rectal cancer patient



Microcytosis, the RBC dominant peak moves to left. From a 34-year old outpatient.



Dimorphologic RBC histogram. From a recovery of Iron-deficiency anemia treatment patient.

Nota tomada de <https://es.slideshare.net/slideshow/capacitacion-5800/26346463#55>

2. Control de calidad interno

1. CONTROL DE CALIDAD INTERNO

El propósito del control interno es evaluar el desempeño del sistema de medición para liberar los resultados de las muestras de pacientes procesadas bajo las mismas condiciones de trabajo. Permiten detectar desvíos y variabilidad del sistema analítico, para tomar acciones preventivas y apoyar en la mejora del desempeño.

1.1 Selección de material control

1.1.1. El laboratorio debe seleccionar el material de control basado en las siguientes premisas:

- i. Que se asemejen lo más posible a muestras de pacientes en cuanto a su reactividad con el sistema de medición utilizado.
- ii. Se pueden elegir de primera opinión (fabricante) y/o tercera opinión (independiente), siendo los últimos más recomendables como alternativa.
- iii. Los controles también pueden ser preparados por el propio laboratorio, como es el caso de un "pool de plasma normal" para control de pruebas de coagulación y este debe realizarse con las precauciones de estabilidad y seguridad para el personal de laboratorio.
- iv. Los controles pueden elegirse con valores asignados previamente al sistema de medición o no valorados, la decisión de cuál escoger depende del laboratorio y puede basarse en criterios como la estabilidad del desempeño del método, costos, disponibilidad y comparación de resultados con grupo par, entre otros. En cualquiera de las alternativas, es recomendable que el

laboratorio establezca sus intervalos de aceptación del control.

1.1.2. Seleccionar al menos dos niveles de material control, salvo que por análisis de desempeño en cartas normalizadas OPSpecs o cálculo del Sigma Métrico o Error Sistemático Crítico, haya demostrado que el número de controles a utilizar sea distinto a lo indicado.

1.1.3. El material de control se debería escoger considerando su estabilidad, disponibilidad en cantidad suficiente para mantener un análisis a través del tiempo, idealmente por al menos 6 meses, o por el tiempo que sea posible de acuerdo a la estabilidad del material, se sugiere el uso de controles de tercera opinión, de matriz similar a las muestras en estudio e incluirlos en una corrida analítica, es recomendable utilizar material(es) de control trazable(s).

1.1.4. El nivel de concentración del control, en lo posible debe estar comprendido en el intervalo de referencia biológico normal y bajo o sobre éste y/o próximos a los límites de decisión médica.

Figura 27. Ejemplo de aplicación gráfica de Levey-Jennyngs



Nota: tomada de diplomadostmumayor <https://es.slideshare.net/slideshow/clase-taller-18102013-uma/27346094#3> (2013)

Segundo: Calibración

1. Se hará uso de los calibradores, ingresando previamente en el equipo sus concentraciones en los diferentes parámetros.

2. Se procederá a calibrar en los parámetros que se encontraran observados en el control de calidad.

Figura 28. Calibrador



Nota. Tomada de <https://cromoion.com/productos/reactivos/control-de-calidad/cc-hematologia/cal-chex-streck>

Control de calidad en coagulometría

Realizar el control de calidad como si fuera una muestra regular, utilizando controles de calidad normal y anormal.

Interpretación: Analizar los resultados obtenidos y evidenciarlos en la curva de Levey-Jennings.

Calibración: Si los resultados están fuera de los límites establecidos, se procede a la calibración de los mismos.

Importancia: El control de calidad diario es crucial para verificar que los parámetros analizados estén dentro de los valores permitidos, asegurando la calidad de los resultados de las muestras procesadas.

Figura 29: Col 2 Wiener Lab



Nota: tomada de Dikysa

Figura 30: Calibradores y controles de calidad



Nota: tomada de <https://coanalyticos.com/>

CONTROL DE CALIDAD EXTERNO

2.1. El Laboratorio requiere complementar el Control de Calidad Interno con un Programa de Evaluación Externa de la Calidad para las prestaciones que este realiza.

2.2. Los resultados del control de calidad externo requieren estar documentados en registros que contengan a lo menos la siguiente información:

- Valor asignado por el organizador del programa.
- Valor informado por el laboratorio.
- % Coeficiente de variación.
- Error o Sesgo.
- % de Sesgo o Desvío Relativo Porcentual.
- Puntaje Z o índice de desviación estándar (IDS).
- Indicar desempeño en el programa de evaluación externo (satisfactorio, cuestionable o insatisfactorio).

2.3. La dirección del laboratorio, encargado de calidad y encargado de metrología, este último si está designado; analizan los resultados y gráficos cada vez que se dispone de un informe de resultados del Programa de Evaluación Externa para detectar No Conformidades y aplicar las acciones correctivas y mejoras que correspondan. Para esto es necesario que el laboratorio implemente y desarrolle los registros adecuados que demuestren evidencia de esta actividad.

Muestra la relación entre el valor del error crítico sistemático, la regla de control (Westgard) y el desempeño del método analítico.

VALOR DE ΔES_{CRIT}	REGLAS DE CONTROL ASOCIADAS	DESEMPEÑO
$\geq 4,0$	$1_{3.5S}$ o 1_{3S}	Excelente
$\geq 3,0$ y $< 4,0$	1_{3S} o $1_{2.5S}$	Bueno, puede mejorar el proceso de control de calidad.
$\geq 2,0$ y $< 3,0$	$1_{2.5S}$ o $1_{3S}/2_{2S}/R_{4S}$	Marginal, debe mejorar el proceso de control de calidad. Por ejemplo: disminuir la imprecisión
$< 2,0$	$1_{2S}/2_{2S}/R_{4S}/4_{1S}$	Pobre, aumentar a N=4 para mejorar imprecisión e inexactitud

V. Resultados

El estudiante estará en la capacidad de realizar correctamente el hemograma automatizado e interpretar sus resultados emitidos e histogramas, además de poder

realizar e interpretar el control de calidad,

VI. Conclusiones

El hemograma automatizado nos brinda un diagnóstico hematológico muy amplio pero que tiene que ser controlado sus diferentes parámetros para garantizar los resultados emitidos.

VII. Sugerencias / recomendaciones

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Referencias

Ciesla, B (2023). *Hematología en la Práctica*. 2ª Ed. Philadelphia, USA: Editorial Amolca.

García, B. (2017). *Técnicas de análisis hematológico*. España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.

Gomes, R. (2018). *Atlas de Hematología. De la morfología al diagnóstico clínico*. Venezuela : Editorial Amolca.

Mérida, F. (2015). *Manual para Técnico Superior de Laboratorio Clínico y Biomédico*. Madrid: Editorial Médica Panamericana.

Quintero, M. (2015). *Atlas – guías para el diagnóstico en Hematología*. Colombia : Editorial Editorial Celsus.

Muñoz, M., y Morón, C. (2005). *Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología*. Instituto Nacional de Salud, Centro Nacional de Salud Pública, Ministerio de Salud de la República del Perú.
<https://vsip.info/manual-hematologia-pdf-free.html>