

Hematología Básica

Guías de

Laboratorio



Visión

Al 2021, ser la mejor universidad para el Perú y el mundo en el contexto de la Cuarta Revolución Industrial.

Misión

Somos una organización de educación superior dinámica que, a través de un ecosistema educativo estimulante, experiencial y colaborativo, forma líderes con mentalidad emprendedora para crear impacto positivo en el Perú y en el mundo.

Universidad Continental

Material publicado con fines de estudio



NORMAS BÁSICAS DE LABORATORIO

Las siguientes normas son aplicables a un laboratorio de hematología las cuales deben ser implementadas y respetadas.

Prácticas de seguridad

1. El lavado de las manos es una de las prácticas de seguridad más importantes. Deben lavarse con jabón y agua aplicando una técnica adecuada. Si no se dispone con facilidad de agua, pueden utilizarse limpiadores de manos antisépticos con toallas de papel.
2. En el área de trabajo del laboratorio debe de prohibirse comer, beber, fumar y aplicarse lápiz labial.
3. Las manos, las lapiceras y otros fómites deben de mantenerse alejados de la boca y de las mucosas del personal de laboratorio.
4. Los alimentos y las bebidas no deben mantenerse en el mismo refrigerador que las muestras o reactivos del laboratorio.
5. Debe prohibirse pipetear con la boca.
6. Las agujas y otros objetos punzocortantes contaminados con sangre y otros materiales potencialmente infecciosos no deben de manipularse de ningún modo.
7. Los elementos punzocortantes contaminados (incluyen pero no están limitados a agujas, hojas de bisturí, pipetas, jeringas con agujas, portaobjetos) deben de colocarse en un recipiente resistente a la perforación que se rotulará de manera adecuada.
8. El personal estará provisto de ropa y equipo protector adecuado para las actividades a realizar.
9. Las placas de flebotomía deben de rotularse de manera adecuada para indicar los materiales potencialmente infecciosos. Las muestras deben colocarse en otro recipiente rotulado como biopeligroso, que se puede volver a cerrar de modo hermético.
10. Cuando los equipos utilizados para procesar las muestras se presentan con contaminación visible o cuando requieren mantenimiento o reparación, deben de desinfectarse, ya sea dentro del laboratorio o por un servicio de reparación del fabricante.

Universidad Continental

Material publicado con fines de estudio

ASUC00431



Índice

VISIÓN	2
MISIÓN	2
NORMAS BÁSICAS DE LABORATORIO	3
ÍNDICE	4
PRIMERA UNIDAD	
Guía de práctica N° 1 : Las células sanguíneas	5
Guía de práctica N° 2: Las células sanguíneas: Los granulocitos	8
Guía de práctica N° 3: Las células sanguíneas inmaduras de serie blanca	11
Guía de práctica N° 4: Toma de muestra y frotis sanguíneo	15
SEGUNDA UNIDAD	
Guía de práctica N° 5: Recuento de leucocitos, hematíes y plaquetas	20
Guía de práctica N° 6: Hemoglobina y hematocrito	25
Guía de práctica N° 7: Índices eritrocitarios y velocidad de sedimentación globular	29
Guía de práctica N° 8: Los reticulocitos y frotis sangre periferica	33
TERCERA UNIDAD	
Guía de práctica N° 9: Evaluación de las alteraciones eritrocitarias	39
Guía de práctica N° 10: Evaluación de las alteraciones eritrocitarias: forma e inclusiones	44
Guía de práctica N° 11: Identifica e interpreta las anemias ferropénicas y megablásticas	52
Guía de práctica N° 12: Las anemias hemolíticas y fragilidad osmótica	55
Cuarta unidad	
Guía de práctica N° 13: Tiempo de sangría y recuento de plaquetas	60
Guía de práctica N° 14: Evaluación vía extrínseca: Tiempo Protrombina	63
Guía de práctica N° 15: Evaluación vía intrínseca: Tiempo de Tromboplastina parcial activada	66
Guía de práctica N° 16: Hemograma automatizado	69



Guía de práctica N° 1

Las células sanguíneas

Sección : Docente:

Fecha : Duración: 180 minutos

Instrucciones: Tener en cuenta el cumplimiento de las normas de bioseguridad, y el cuidado de los microscopios usados en el desarrollo de la práctica.

1. Propósito /Objetivo :

Reconocer la morfología de las células sanguíneas.

2. Fundamento Teórico

La hematopoyesis es el mecanismo por el cual se forman las distintas células sanguíneas, participando en ello diversos órganos que suministran las células necesarias para el funcionamiento adecuado de nuestro organismo. Todas las células provienen de una misma célula "stem cell" y a partir de ella se diferencian en las diferentes líneas celulares como linfóide y mieloide. De ésta última tenemos a la línea eritroide, mieloide propiamente dicha, monoblástica y megacarioblástica.

El estudio celular es un procedimiento que tiene una gran utilidad clínica en la confirmación diagnóstica de enfermedades hematológicas.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopios	Binocular	6

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Papel lente	Papel suave y delicado	12

3.2. Reactivos

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

4. Indicaciones/instrucciones:

4.1 Se realizará la descripción de las partes del microscopio, y sus funciones.

4.2 Cuidados del microscopio.

5. Procedimientos:

Primero : Reconocimiento de la serie roja

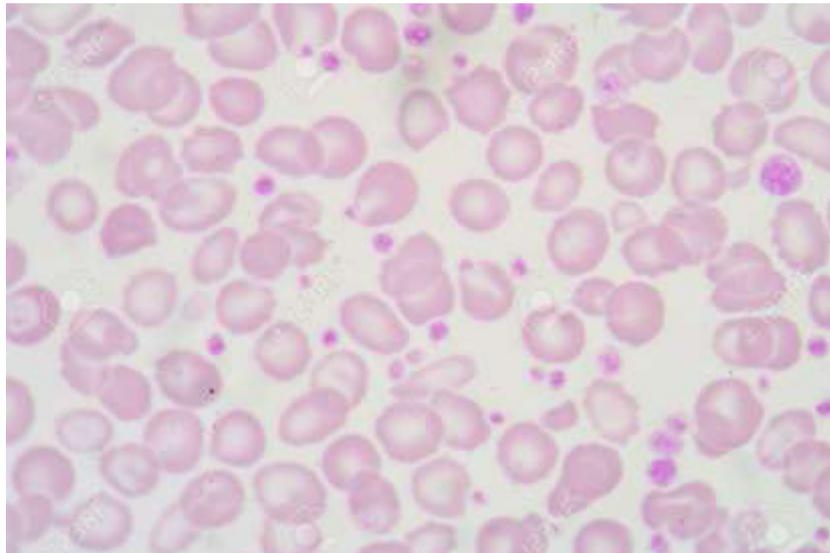


Glóbulo rojo : Son células anucleadas de color rosado y de forma redondeada u oval, con una depresión más clara en el centro. Tienen un diámetro de 7 μm , y 2 μm de espesor, forma bicóncava.



Segundo : Reconocimiento de las plaquetas

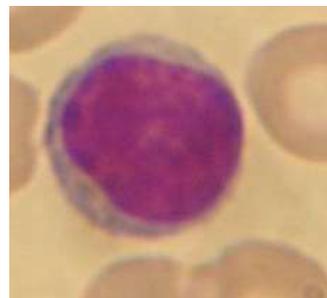
Las plaquetas se originan a partir de la fragmentación del citoplasma de los megacariocitos. Son elementos formes de 1 a 3 μm , de color rojizo o grisáceo y muestran una fina granulación azurófila situada en la zona central el granulómero y rodeada de una zona de citoplasma pálido, el hialómero.



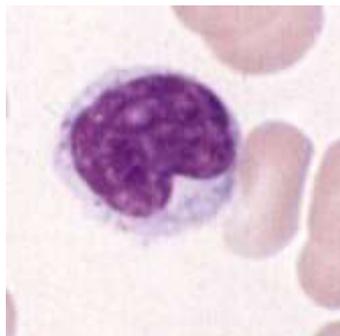
Tercero : Reconocimiento de los linfocitos y monocitos

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 si 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.



6. Resultados

1. El estudiante reconocerá la morfología de un eritrocito.
2. Será capaz de identificar a las plaquetas.
3. El estudiante diferenciará por su morfología a los monocitos y linfocitos.

7. Conclusiones

- 7.1 Las células sanguíneas se originan de una célula madre totipotencial que tiene la capacidad de autoduplicarse y diferenciarse en las diferentes líneas celulares.
- 7.2 Los eritrocitos o glóbulos rojos no poseen núcleo, ni organelas.
- 7.3 Los linfocitos y monocitos son células mononucleares, que se diferencian morfológicamente por el tamaño celular y la consistencia de la cromatina.

8. Sugerencias y /o recomendaciones

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

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- García Espinoza, B., Rubio Campal, F. y Crespo Gonzales, M.R. (2015). *Técnicas de análisis hematológico* (1ª ed.). España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, B. (2014). *Hematología en la práctica* (2ª ed.). Philadelphia USA: Amolca.
- Muñoz Zambrano, M.E. y Morón Cortijo, C.G. (2005). *Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología*. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre, F.J. y Moreno Campoy, E.E. (2015). *Manual para técnico superior de laboratorio clínico y biomédico* (1ª ed.). Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Bernard, H.J. (2007). *El laboratorio en el diagnóstico clínico* (1ª ed.). Madrid: Marbán Libros., S.L.
- Rodak, B.F. (2010). *Hematología: Fundamentos y aplicaciones clínicas* (2ª ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.



Guía de práctica N° 2

Las células sanguíneas: Los granulocitos

Sección : _____ Docente:

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

Instrucciones: Cumplir las normas de bioseguridad, y el cuidado de los microscopios usados en el desarrollo de la práctica.

1. Propósito /Objetivo :

Reconoce la morfología de los granulocitos.

2. Fundamento Teórico

Los glóbulos blancos se originan desde una célula madre pluripotente, y ésta da origen a una célula madre mieloide y a una célula madre linfoide. Los mieloblastos dan origen a los tres tipos de granulocitos. Los granulocitos tienen gránulos visibles y se desarrollan solo en la médula ósea y éstos a su vez se dividen de acuerdo con el tipo de reacción neutrófila, eosinófila o basófila, detectada en los gránulos cuando se tiñen de manera diferencial con una tinción tipo Romanowsky. Los granulocitos pueden encontrarse en concentraciones elevadas en cuatro lugares: médula ósea, circulando libremente en la sangre periférica, marginados contra el endotelio de los vasos sanguíneos y en los tejidos. Estos lugares se denominan compartimientos de granulocitos.

La principal función de los leucocitos es establecer un mecanismo de defensa frente a la entrada de agentes extraños al organismo. Se encargan de la respuesta inespecífica, principalmente de fagocitos teniendo como función fagocitar elementos extraños para el organismo (neutrófilos, eosinófilos y monocitos) y la de los basófilos su función es de liberar el contenido de sus gránulos para atraer a otros leucocitos.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopios	Binocular	6

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Papel lente	Papel suave y delicado	12

3.2. Reactivos

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

4. Indicaciones/instrucciones:

4.1 Se realizará la descripción teórica y práctica de cada una de las células.

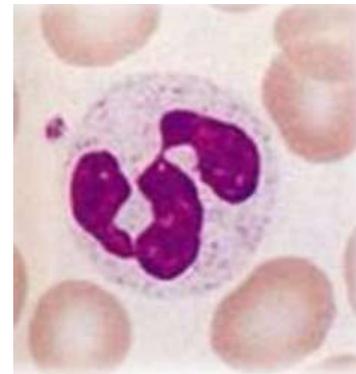
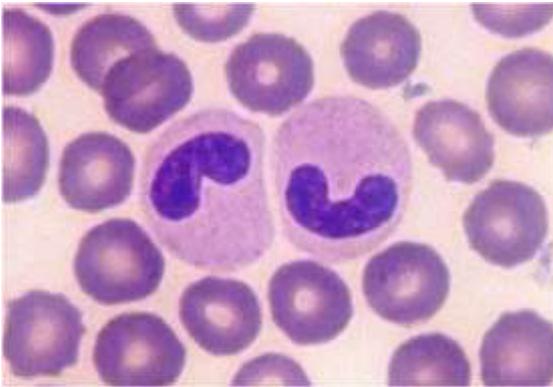
4.2 Con la ayuda del docente se identificará mediante la microscopía a cada una de las células sanguíneas.

5. Procedimientos

Primero :

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 abastonados, 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



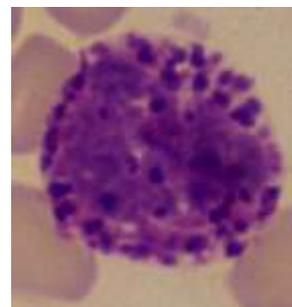
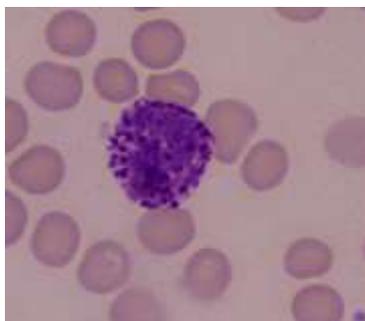
Segundo :

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.

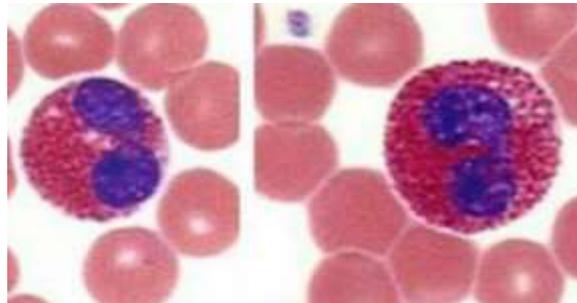
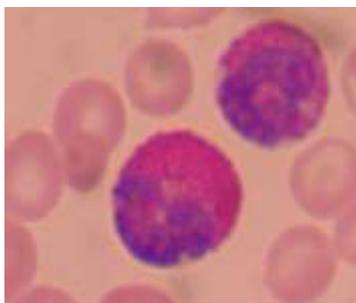
En el citoplasma también se pueden observar vacuolas formadas después del vaciado de los gránulos.



Tercero :



Eosinófilos : Son redondeados, aproximadamente de 12 a 17 um, 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.



6. Resultados

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

7. Conclusiones

- 7.1 Los neutrófilos poseen una granulación muy fina de color pardo, y se encuentran en mayor cantidad en nuestro torrente sanguíneo.
- 7.2 Los basófilos son caracterizados por su granulación azulada negruzca que inclusive llegar a cubrir el núcleo y no nos deja visualizarlo.
- 7.3 Los eosinófilos presentan granulación de color naranja.

8. Sugerencias y /o recomendaciones

.....
 ...

 ...

 ...

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- García Espinoza, B., Rubio Campal, F. y Crespo Gonzales, M.R. (2015). *Técnicas de análisis hematológico* (1ª ed.). España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, B. (2014). *Hematología en la práctica* (2ª ed.). Philadelphia USA: Amolca.
- Muñoz Zambrano, M.E. y Morón Cortijo, C.G. (2005). *Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología*. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre, F.J. y Moreno Campoy, E.E. (2015). *Manual para técnico superior de laboratorio clínico y biomédico* (1º ed.). Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Bernard, H.J. (2007). *El laboratorio en el diagnóstico clínico* (1º ed.). Madrid: Marbán Libros., S.L.
- Rodak, B.F. (2010). *Hematología: Fundamentos y aplicaciones clínicas* (2ª ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.



Guía de práctica N° 3

Las células sanguíneas inmaduras de serie blanca

Sección: _____ Docente:

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

Instrucciones: Cumplir las normas de bioseguridad, y el cuidado de los microscopios y materiales usados en el desarrollo de la práctica.

1. Propósito /Objetivo :

Reconoce la morfología de las células inmaduras de serie blanca.

2. Fundamento Teórico

Las células madre stem cells no se pueden diferenciar morfológicamente, pero si lo podemos hacer haciendo uso de la inmunofenotipificación, porque poseen en su membrana su antígeno de inmadurez CD 34, de igual manera podemos identificar también a las pluripotentes y las comprometidas.

Las células precursoras son células más maduras con características morfológicas y funcionales específicas para cada tipo de célula sanguínea terminal. Se conocen como blastos (proeritroblasto, mieloblasto, monoblasto, linfoblasto y megacarioblasto), éstas células tienen menos capacidad para autoduplicarse y sufren una maduración paulatina hasta llegar a la célula final en cada serie.

Las células sanguíneas inmaduras se encuentran en la médula ósea y/o órganos linfoides primarios, a medida que alcanzan la madurez pasan a torrente sanguíneo, tales como los reticulocitos y hematíes en la serie roja, los abastados y segmentados neutrófilos, eosinófilos y basófilos en los granulocitos, y los monocitos en la serie monocítica. De igual forma las plaquetas en la serie plaquetaria y los linfocitos B, T y NK en la serie linfóide, así como las células plasmáticas

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopios	Binocular	6

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Papel lente	Papel suave y delicado	12

3.2. Reactivos

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

4. Indicaciones/instrucciones:

4.1 Se realizará la descripción teórica y práctica de cada una de las células.

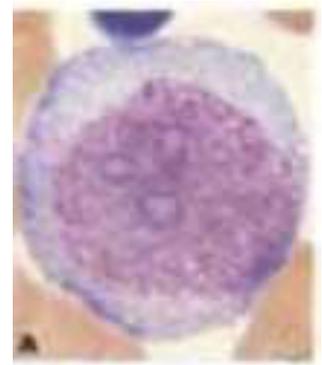
4.2 Con la ayuda del docente se identificará mediante la microscopía a cada una de las células sanguíneas.

5. Procedimientos

Primero :

BLASTOS : El tamaño varía entre 18 a 25 μm , con un núcleo central, redondeado, ovaladoo ligeramente indentado. La relación núcleo : citoplasma es alta 6:1, su cromatina es inmadura, laxa, con múltiples nucléolos.

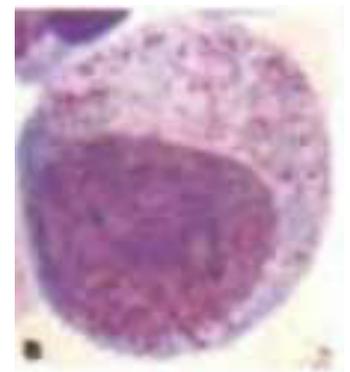
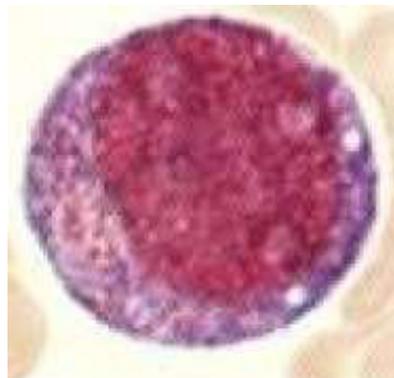
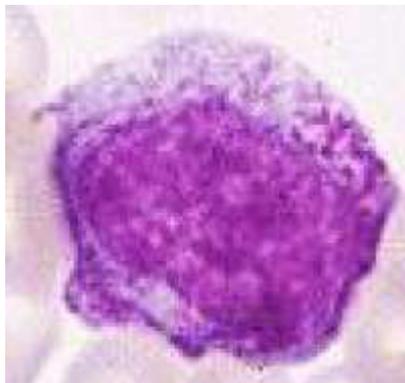
Su citoplasma es basófilo, escaso y generalmente sin gránulos,



Segundo :

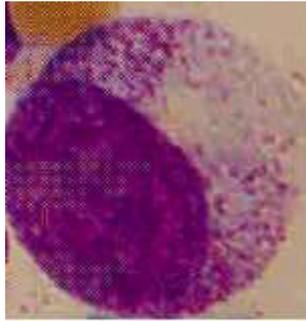
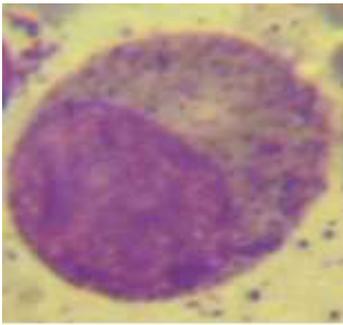
Promielocito

El tamaño es ligeramente mayor al del blasto, la relación N:C es 3:1, su citoplasma es basófilo, con gránulos primarios (azurófilos) azul rojizo, son gránulos no específicos, dejando una zona más clara agranular alrededor del núcleo. Presenta un nucléolo prominente.



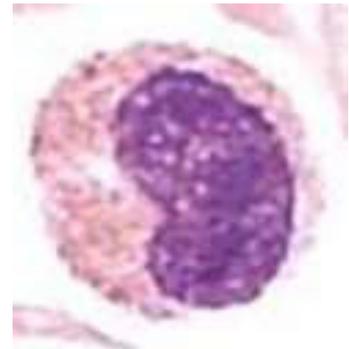
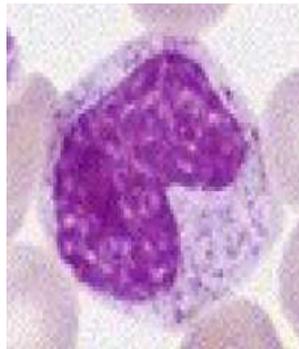
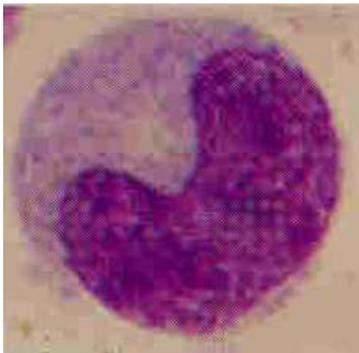
Tercero :

Mielocito : Relación N : C es mayor es de 2 : 1. Su tamaño varía entre 10 a 18 μm , con un núcleo redondeado, excéntrico, no presenta nucléolos. Su cromatina es condensada, con apariencia agrupada. El citoplasma pierde su basofilia, y aparece la granulación secundaria, específica para la línea que le corresponde, neutrófila, eosinófila y basofílica. Es la última célula que hace mitosis. Presenta una zona de Golgi más visible y clara, cerca al núcleo.



Cuarto :

Metamielocito : Su tamaño varía entre 10 a 15 um, tienen las mismas características que el mielocito salvo que el núcleo se va haciendo más escotado en la parte central, con la apariencia de sol naciente, o frijol. El núcleo ocupa menos del 50% del citoplasma, se observa la zona golgi y la granulación secundaria. Puede empezar a aparecer en sangre periférica.



6. Resultados

1. El estudiante reconocerá la morfología de un blasto.
2. Será capaz de identificar a los promielocitos.
3. El estudiante diferenciará por su morfología a los mielocito y metamielocitos.

7. Conclusiones

- 7.1 Los blastos se caracterizan por su cromatina laxa con nucléolos y citoplasma basófilo.
- 7.2 Los promielocitos son caracterizados por su granulación primaria.
- 7.3 Los mielocitos y metamielocitos presentan granulación secundaria con zona Golgi visible, se diferencian entre ambas, porque el núcleo del mielocito ocupa más del 50% del citoplasma y en el metamielocito menos del 50% y aparece indentado.

8. Sugerencias y/o recomendaciones

.....

...



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

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- García Espinoza, B., Rubio Campal, F. y Crespo Gonzales, M.R. (2015). *Técnicas de análisis hematológico* (1ª ed.). España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, B. (2014). *Hematología en la práctica* (2ª ed.). Philadelphia USA: Amolca.
- Muñoz Zambrano, M.E. y Morón Cortijo, C.G. (2005). *Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología*. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre, F.J. y Moreno Campoy, E.E. (2015). *Manual para técnico superior de laboratorio clínico y biomédico* (1º ed.). Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Bernard, H.J. (2007). *El laboratorio en el diagnóstico clínico* (1ª ed.). Madrid: Marbán Libros., S.L.
- Rodak, B.F. (2010). *Hematología: Fundamentos y aplicaciones clínicas* (2ª ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.



Guía de práctica N° 4

Toma de muestra y frotis sanguíneo

Sección : Docente:

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

Instrucciones: Cumplir las normas de bioseguridad durante los procedimientos a realizarse.

1. Propósito /Objetivo :

Realiza una toma de muestra adecuada y un frotis sanguíneo adecuado.

2. Fundamento Teórico

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 impregnados con diferentes tipos de anticoagulante o sin ellos, exactamente calculados para una cantidad de muestra exacta, con agujas estériles de diferentes calibres, de acuerdo al grosor de la vena a punzar. 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 sus posibles alteraciones.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Tubos al vacío con EDTA	4 ml	6 unid.
2	Agujas	Nº 21 x 1 mm	6 unid.
3	ligaduras	De jebe	6 unid.
4	Adaptadores para agujas	De plástico	6 unid,
5	Láminas portaobjetos	Vidrio libres de grasa	2 cajas
6	Láminas biseladas	vidrio	12 unid.
7	Algodón		100 gr
8	Varillas de coloración		
9	Plumones marcadores	Tinta indeleble	6 unid.
10	Lápiz	Carbón	6 unid.
11	Esparadrapo	antialérgico	1 tubo
12	Guantes	6 ½ ó 7	12 unid.
13	Recipientes descarte material punzo cortante	Material duro de plástico y/o cartón.	1 unid.
14	Pipeta o capilares para depositar La sangre	Plástico o vidrio	12 unid.
15	Campos limpieza láminas	Tela	6 unid.
17	Recipientes colocar láminas	Con solución limpiadora	6 unid

3.2. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Alcohol	70°	10 ml
2	Colorante wright	Filtrado	50 ml
3	Solución tamponada		50 ml

4. Indicaciones/instrucciones:

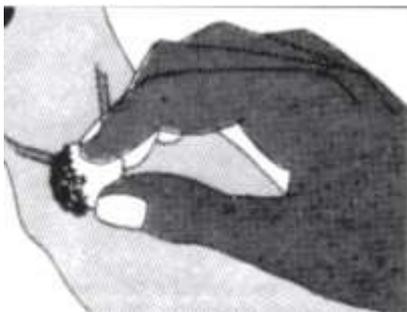
- 4.1 Se realizará una estricta observación de las medidas de bioseguridad durante la toma de muestra.
- 4.2 También se tendrá en cuenta durante los procedimientos de laboratorio las medidas de bioseguridad y trabajaremos con medidas de protección, tales como guardapolvos, guantes, etc.

5. Procedimientos

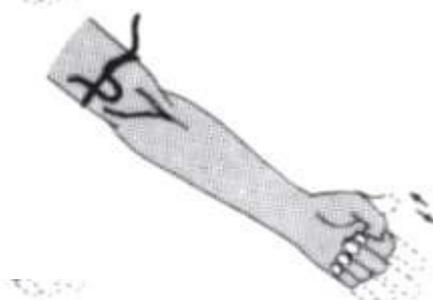
Primero :

Procedimientos para la venopunción

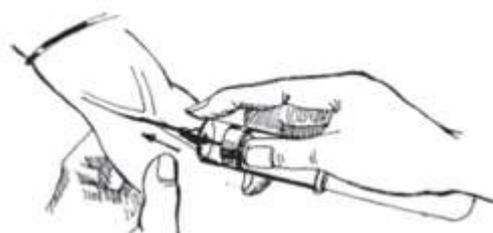
1. Verificar los datos de la orden de análisis, e identificar al paciente.
2. Verificar si tiene alguna restricción de la dieta, de acuerdo a las pruebas solicitadas.
3. Colocarse los guantes, dar confianza al paciente.
4. Posicionarlo.
5. Verificar el protocolo de trabajo y la selección de los tubos.
6. Si es necesario para localizar las venas, pedir al paciente que cierre el puño .
7. Desinfectar el área elegida con alcohol, con círculos concéntricos desde el centro hacia la periferie. Dejar secar.



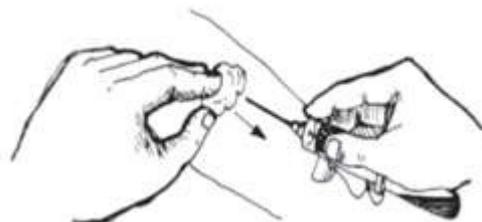
8. Aplicar el torniquete 5 a 10 cm. Por encima del sitio de punción, durante no más de 1 minuto.



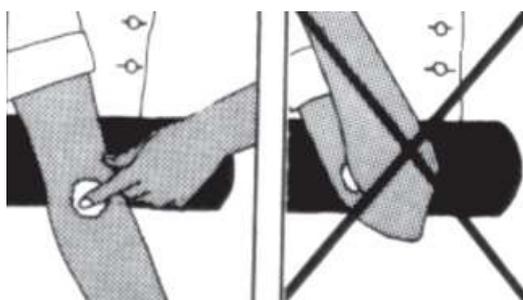
9. Realizar la venopunción, fijando la vena 2.5 a 5 cm por debajo del sitio e insertar la aguja con el bisel hacia arriba, con un ángulo de 15° entre la aguja y la piel, soltando el torniquete inmediatamente y pidiéndole al paciente a que abra su puño, colocando los tubos en el orden correcto.



10. Colocar el algodón seco y quitar la aguja, aplicando presión directa sobre el sitio de punción.



11. Colocar el esparadrapo para fijar el algodón después de verificar que no hay sangrado y no permitir que el paciente doble el brazo.

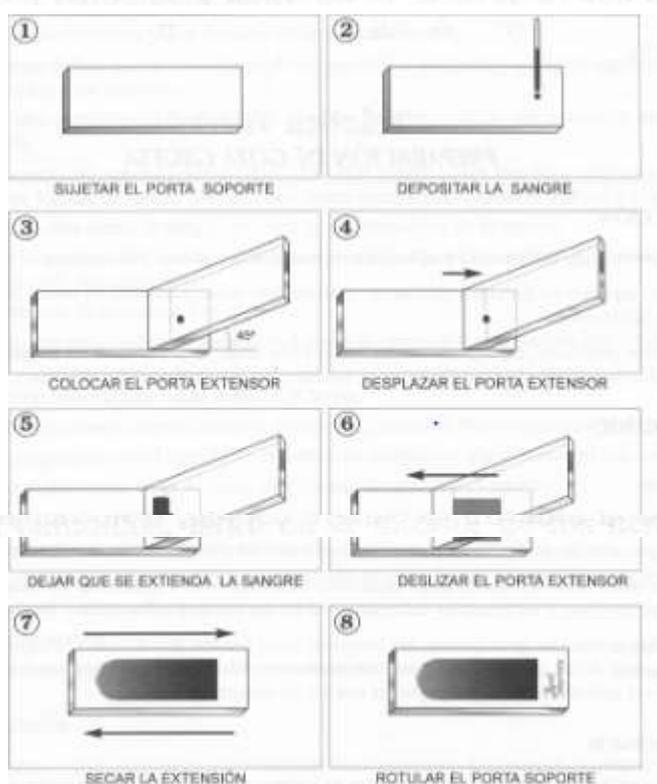


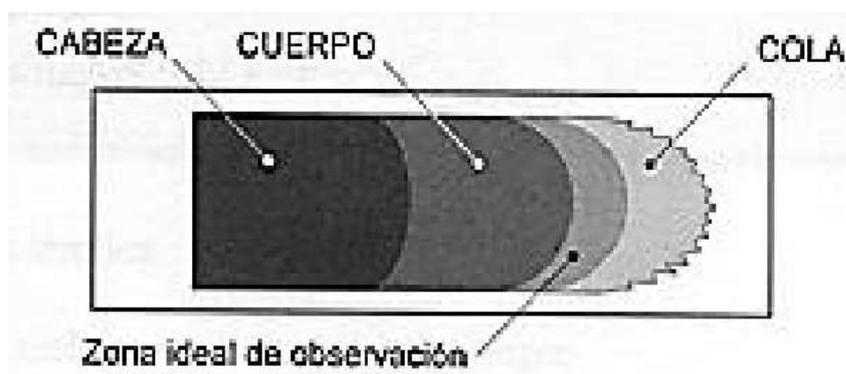
12. Descartar los elementos punzocortantes en el recipiente respectivo y los residuos peligrosos.
13. Rotular los tubos con los datos correctos en presencia del paciente, para evitar errores.

Segundo :

Realización del frotís

1. Homogenizar la muestra, de 10 a 20 veces.
2. Realizar la extensión preferentemente de la punta de la aguja o 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.



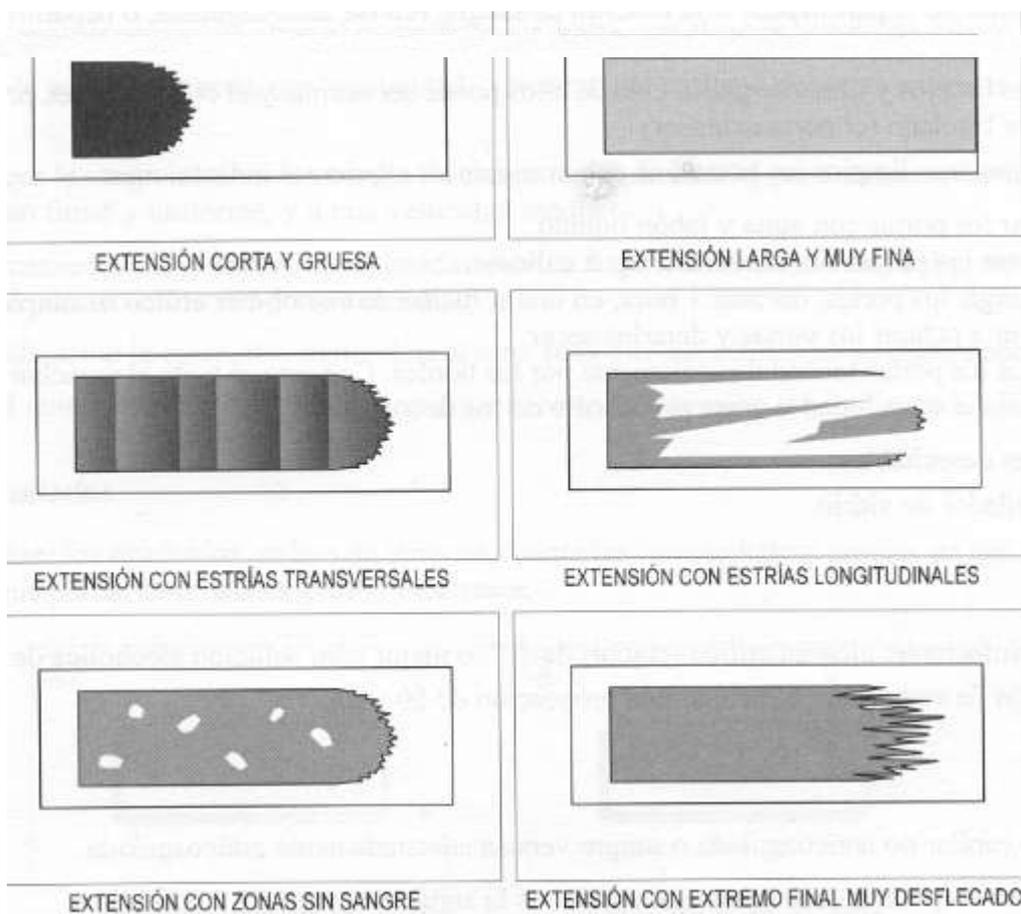


CARACTERÍSTICAS DE UNA BUENA EXTENSION:

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.



NOTA: Se sugiere en caso de muestras anémicas aumentar el ángulo y la velocidad de movimiento del



extenson, e inversamente si la muestra es policitémica disminuir el ángulo y la velocidad de movimiento.

6. 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.

7. Conclusiones

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

8. Sugerencias y /o recomendaciones

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

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- García Espinoza, B., Rubio Campal, F. y Crespo Gonzales, M.R. (2015). *Técnicas de análisis hematológico* (1ª ed.). España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, B. (2014). *Hematología en la práctica* (2ª ed.). Philadelphia USA: Amolca.
- Muñoz Zambrano, M.E. y Morón Cortijo, C.G. (2005). *Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología*. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre, F.J. y Moreno Campoy, E.E. (2015). *Manual para técnico superior de laboratorio clínico y biomédico* (1º ed.). Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Bernard, H.J. (2007). *El laboratorio en el diagnóstico clínico* (1º ed.). Madrid: Marbán Libros., S.L.
- Rodak, B.F. (2010). *Hematología: Fundamentos y aplicaciones clínicas* (2ª ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.



Guía de práctica N° 5

Recuento de leucocitos, hematíes y plaquetas

Sección : _____

Fecha :/..../.....

Docente:

..... Duración: 180 minutos

Instrucciones: Cumplir las normas de bioseguridad durante los procedimientos a realizarse.

1. Propósito /Objetivo :

Realiza el recuento de leucocitos, hematíes y plaquetas.

2. Fundamento Teórico

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 mm³ 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.

El recuento de plaquetas se realizará en forma indirecta en el frotis sanguíneo coloreado, también se realiza en forma automatizada.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1 Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopio	binocular	6 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	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	Cámaras de neubauer	vidrio	12 unid.
9	Papel lente		12 unid.
10	Recipientes descarte de tips	Con lejía diluida	6 frascos
11	Campos	Limpieza de cámaras	6 unid.
12	guantes	Látex	12 pares

3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Reactivo de turk		10 ml
2	Reactivo hayem y/o dacie	Solución isotónica	10 ml
3	Aceite de inmersión		6 frascos gotero
4	Alcohol isopropílico		6 frascos

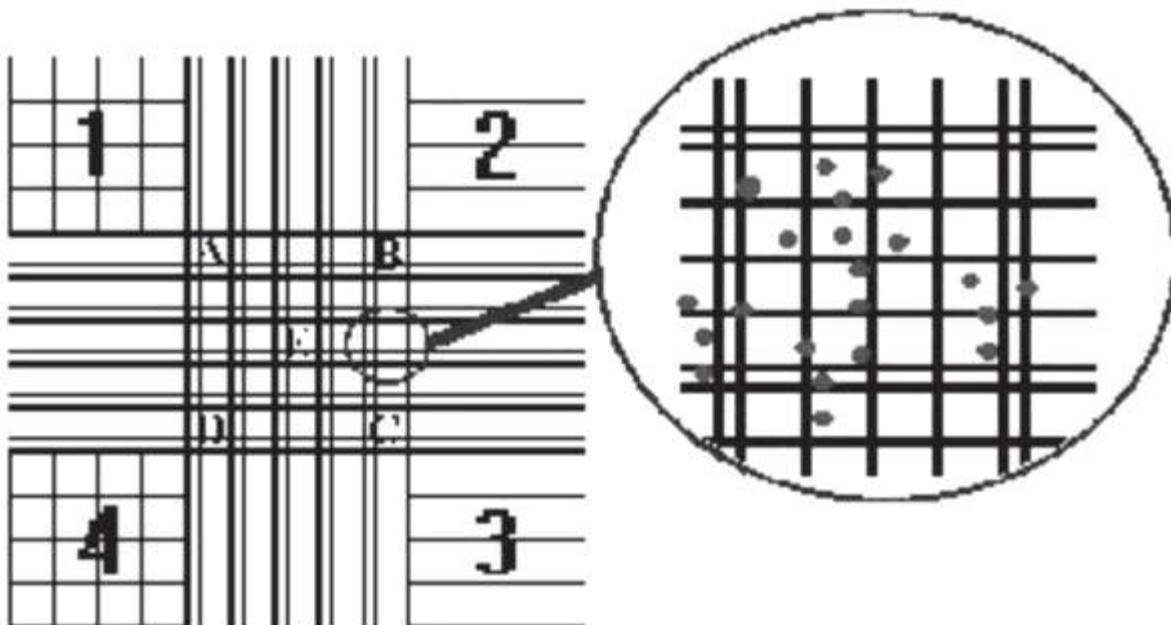
4. Indicaciones/instrucciones:

- 4.1 Se realizará una estricta observación de las medidas de bioseguridad durante el procesamiento de las muestras.
- 4.2 Se entrega los protocolos de trabajo para los procedimientos a realizar.

5. 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 40x. 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.



Valores de referencia eritrocitos

Hombres 4 400 000 - 6 000 000/ mm³

Mujeres 3 900 000 - 5 400 000/ mm³



Cálculos:

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

Reemplazando

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

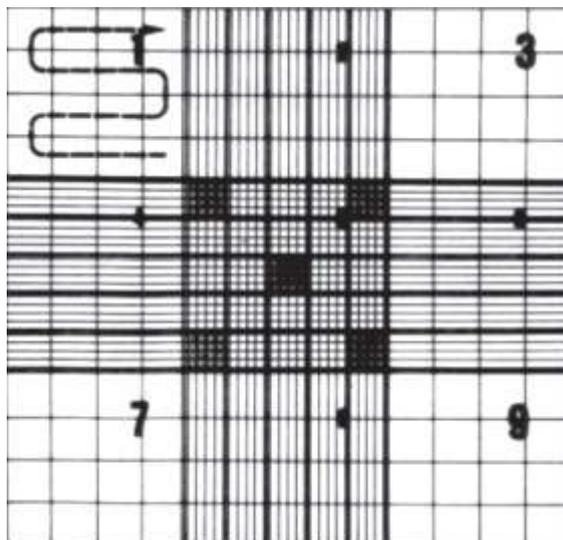
$$= \frac{\text{hematíes contados en 5 cuadrados pequeños}}{1/10\,000}$$

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

Segundo : RECuento DE LEUCOCITOS

1. Colocar 190 uL de solución de Turk en un tubo de vidrio
2. 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.
3. Con el misma tip colocamos 10 ul del diluido y lo colocamos 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.





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:

$$\text{Nº de leucocitos x mm}^3 = \frac{\text{leucocitos contados en 4 campos}}{\text{altura x dilución x área}}$$

$$\text{Reemplazando} = \frac{\text{leucocitos contados en 4 campos}}{1/10 \times 1/20 \times 4}$$

$$= \frac{\text{leucocitos contados en 4 campos}}{4/200} = \text{leucocitos contados en 4 campos} \times 50$$

Valores de referencia : 5000 - 10 000 leucocitos / mm³

TERCERO : Recuento de Plaquetas

- Preparar un frotis de muestra de sangre venosa o capilar, eliminando la primera gota. Teñir el frotis con Wright.
- Observamos el frotis sanguíneo con el objetivo de inmersión en el microscopio.
- 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.
- Calculamos el promedio, sumando las plaquetas observadas en los diez campos y dividiendo entre 10.

$$\text{Nº PLAQUETAS} = \frac{\text{PLAQUETAS}(1+2+3+4+5+6+\dots+10)}{10} \times \text{HTO} \times 100$$

Si el hematocrito es menor de 45 aumentar 3 al valor del hematocrito, si es mayor de 45 se disminuye en 3.

Valores de referencia de plaquetas

150,000 – 450,000 pmmc

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

6. 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 y confirmarlos con un método indirecto en lámina periférica.

7. Conclusiones

- 7.1 El recuento de eritrocitos se constituye en un indicador importante para la clasificación morfológica de las anemias.
- 7.2 El recuento de leucocitos ayuda a descartar cualquier estado patológico infeccioso o leucémico de un paciente.
- 7.3 El recuento de plaquetas es muy importante para el diagnóstico de las alteraciones de la coagulación, y se debería de verificar los resultados obtenidos de un hemograma automatizado de forma indirecta, para descartar problemas de agregación plaquetaria, satelitismo, etc.

8. Sugerencias y /o recomendaciones

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

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- García Espinoza, B., Rubio Campal, F. y Crespo Gonzales, M.R. (2015). *Técnicas de análisis hematológico* (1ª ed.). España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, B. (2014). *Hematología en la práctica* (2ª ed.). Philadelphia USA: Amolca.
- Muñoz Zambrano, M.E. y Morón Cortijo, C.G. (2005). *Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología*. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre, F.J. y Moreno Campoy, E.E. (2015). *Manual para técnico superior de laboratorio clínico y biomédico* (1º ed.). Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Bernard, H.J. (2007). *El laboratorio en el diagnóstico clínico* (1º ed.). Madrid: Marbán Libros., S.L.
- Rodak, B.F. (2010). *Hematología: Fundamentos y aplicaciones clínicas* (2ª ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.



Guía de práctica N° 6

Hemoglobina y hematocrito

Sección : Docente:

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

Instrucciones: Cumplir las normas de bioseguridad durante los procedimientos a realizarse.

1. Propósito /Objetivo :

Realiza el dosaje de hemoglobina y hematocrito

2. Fundamento Teórico

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 oxi 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.

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.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.2 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.

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	20 unid.
9	Plastilina	Colores claros	2 unid.
10	Recipientes descarte de tips	Con lejía diluida	6 frascos
11	Lector de microhematocrito		2 unid.
12	guantes	Látex	12 pares

13	algodón		50 gramos
14	Tubos con EDTA	4 ml	6 unid.
15	Agujas	21 x 1 (al vacío)	6 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

4. Indicaciones/instrucciones:

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

4.2 Se entrega los protocolos de trabajo de los procedimientos a realizar.

5. 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.



- Llenar los capilares azules con la sangre anticoagulada (Wintrobe o EDTA), previamente homogenizada 20 a 30 veces, limpiar el exceso de sangre con un algodón.
- Tapar un extremo del capilar con plastilina.
- Colocar el capilar en la microcentrífuga con la parte cerrada hacia afuera.



- Centrifugar por 5 minutos entre 10 000 - 12 000 rpm.

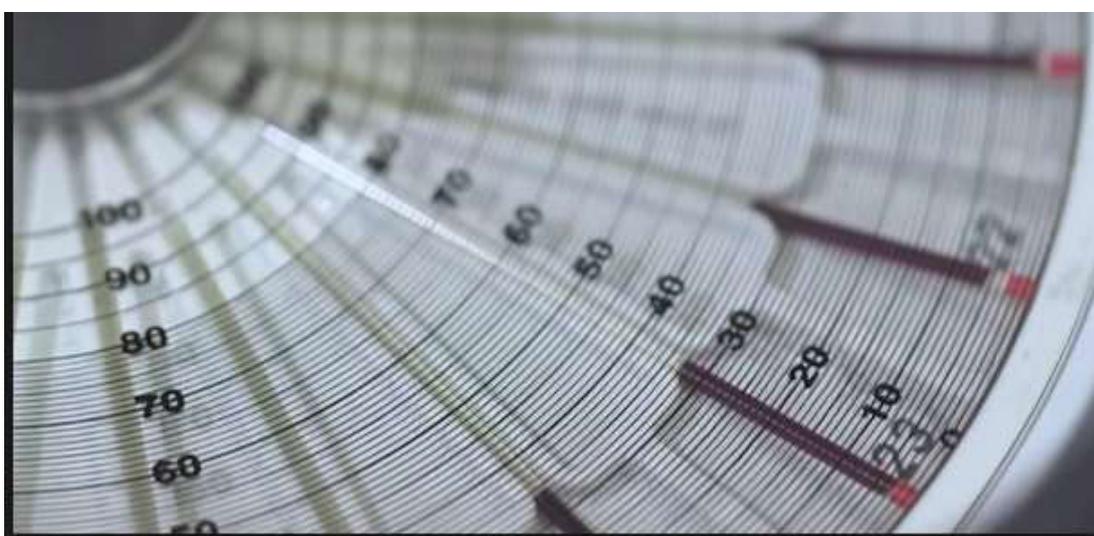
Resultados (lectura)

La lectura se realiza con una escala estandarizada que expenden en el comercio.

Uso de la escala:

- ◆ Sostenga el tubo 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.

**Valores de referencia:**

Hombres 40% - 54%
Mujeres 36% - 49%

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.

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 formula:

$$\text{Factor} = \frac{\text{absorbancia } (D)}{\text{concentración standard}}$$

Absorbancia standard



VALORES DE REFERENCIA

Hombres 14 a 18 g/dl
Mujeres 12 a 16 g/dl

6. Resultados

- 3. El estudiante estará en la capacidad de realizar el dosaje de hemoglobina.
- 4. Podrá realizar e interpretar los resultados del hematocrito.

7. Conclusiones

- 7.1 El hematocrito nos permite conocer si un paciente presenta anemia, policitemia o una cantidad normal del mismo.
- 7.2 La cianometahemoglobina es un método más exacto para el dosaje de hemoglobina.

8. Sugerencias y/o recomendaciones

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

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- García Espinoza, B., Rubio Campal, F. y Crespo Gonzales, M.R. (2015). *Técnicas de análisis hematológico* (1ª ed.). España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, B. (2014). *Hematología en la práctica* (2ª ed.). Philadelphia USA: Amolca.
- Muñoz Zambrano, M.E. y Morón Cortijo, C.G. (2005). *Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología*. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre, F.J. y Moreno Campoy, E.E. (2015). *Manual para técnico superior de laboratorio clínico y biomédico* (1º ed.). Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Bernard, H.J. (2007). *El laboratorio en el diagnóstico clínico* (1º ed.). Madrid: Marbán Libros, S.L.
- Rodak, B.F. (2010). *Hematología: Fundamentos y aplicaciones clínicas* (2ª ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.



Guía de práctica N° 7

Índices eritrocitarios y velocidad de sedimentación globular

Sección : Docente:

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

Instrucciones: Cumplir las normas de bioseguridad durante los procedimientos a realizarse.

1. Propósito /Objetivo :

Realiza correctamente la velocidad de sedimentación globular e interpreta los índices eritrocitarios.

2. Fundamento Teórico

Para la medición de la velocidad de sedimentación globular, se coloca una muestra anticoagulada de sangre en el interior de un tubo, puede ser westergreen o wintrobe, que se encuentra en forma vertical. De esta forma van cayendo por la fuerza de la gravedad, hacia la parte interna del tubo, el cual lo controlamos exactamente por una hora si es Wintrobe o dos horas si lo hacemos en los tubos de Westergreen. Para ello medimos la longitud del recorrido que desciende la columna de eritrocitos en un tiempo determinado de acuerdo a la técnica usada en mm/hora.

Los Índices eritrocitarios nos expresan diferentes características de los hematíes, tenemos a los índices eritrocitarios primarios que vienen a ser el RGR, el hematocrito y la hemoglobina. A partir de ellos podemos obtener los índices eritrocitarios secundarios que son : VCM, HCM, CHCM, Con éstos datos podemos realizar la clasificación morfológica de la anemias. Esta clasificación es fácilmente disponible usando los datos del hemograma y se puede actuar con bastante rapidez para comenzar con una investigación de la causa. Hay tres clasificaciones morfológicas de las anemias : anemia normocítica normocrómica, anemia hipocrómica microcítica, anemia normocítica macrocítica.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.3 Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Equipo automatizado de hematología	3 ó 5 diferenciales	1 unid.

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Gradillas	Plástico y/o metal	6 unid.
2	Recipientes descarte de materiales	Con lejía diluida	6 frascos
3	guantes	Látex	12 pares
4	algodón		50 gramos
5	Tubos con EDTA	4 ml	6 unid.
6	Agujas	21 x 1 (al vacío)	6 unid.
7	Tubos de westergreen o wintrobe	vidrio	12 unid.
8	Soportes para westergreen o wintrobe	metálico	6 unid.
9	Propipeta	jebe	6 unid.



3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Alcohol	70°	10 ml

4. Indicaciones/instrucciones:

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

4.2 Se entrega los protocolos de trabajo de los procedimientos a realizar.

5. Procedimientos

Primero : VELOCIDAD DE SEDIMENTACION GLOBULAR

1. Mezclar suavemente la sangre con el anticoagulante.
2. Haciendo uso de una propipeta cargar en el tubo de westergreen hasta la marca de "0".
3. Con mucho cuidado colocar en el soporte de westergreen.
4. Leer lo que descendió a la hora y registrarlo y luego a las dos horas.
5. Haciendo uso de Índice de Katz, expresar el resultado en mm/hora.

$$\text{Índice de Katz} = \frac{\text{VSG 1ª Hora} + \text{VSG 2ª Hora}}{2}$$

6. En el caso de los tubos de Wintrobe, haciendo uso de una jeringa con aguja larga para poder llenar la muestra, hasta la marca de "0" y se lee a la hora cuantos milímetros ha descendido.

VALORES NORMALES WESTERGREEN

VSG	1ª HORA	2ª HORA
Varones	2 – 7 mm	8 – 15 mm
Mujeres	3 – 10 mm	12 – 20 mm

VALORES NORMALES WINTROBE

VARONES 0 – 4 mm/hora
 MUJERES 0 – 10 mm/hora

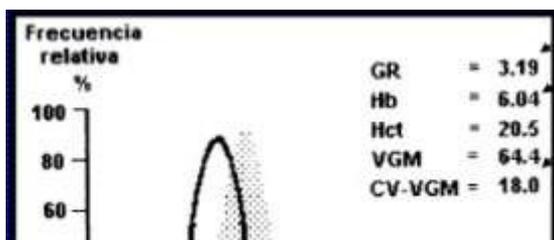
Segundo : INDICES ERITROCITARIOS

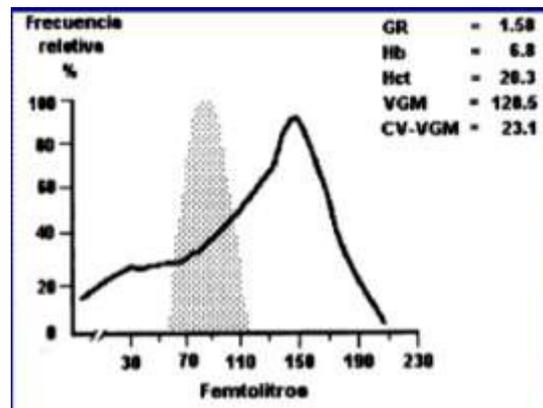
Procedimiento :

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

$$\text{VCM} = \frac{\text{Hto}}{\text{RGR}} \times 10$$

El valor normal es de 80 a 100 fl e implica un tamaño del glóbulo rojo de 6 a 8 um, valores por encima de 100 fl corresponde a una macrocitosis, y por debajo de 80 fl a una microcitosis.





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

$$\text{HCM} = \frac{\text{Hb (g/dl)}}{\text{RGR}} \times 10$$

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.

6. Resultados

1. El estudiante estará en la capacidad de realizar la velocidad de sedimentación globular.
2. Podrá calcular e interpretar los resultados de los índices eritrocitarios.

7. Conclusiones

- 7.1 La velocidad de sedimentación globular es una prueba muy importante en el control de la evolución de algunas enfermedades, tales como por ejemplo las inflamatorias.
- 7.2 Los índices eritrocitarios son muy importantes en la clasificación morfológica de las anemias.



8. Sugerencias y /o recomendaciones

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

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- García Espinoza, B., Rubio Campal, F. y Crespo Gonzales, M.R. (2015). *Técnicas de análisis hematológico* (1ª ed.). España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, B. (2014). *Hematología en la práctica* (2ª ed.). Philadelphia USA: Amolca.
- Muñoz Zambrano, M.E. y Morón Cortijo, C.G. (2005). *Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología*. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre, F.J. y Moreno Campoy, E.E. (2015). *Manual para técnico superior de laboratorio clínico y biomédico* (1º ed.). Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Bernard, H.J. (2007). *El laboratorio en el diagnóstico clínico* (1º ed.). Madrid: Marbán Libros., S.L.
- Rodak, B.F. (2010). *Hematología: Fundamentos y aplicaciones clínicas* (2ª ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.



Guía de práctica N° 8

Los reticulocitos y frotis sangre periférica

Sección : Docente:

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

Instrucciones: Cumplir las normas de bioseguridad durante los procedimientos a realizarse.

1. Propósito /Objetivo :

Realiza el recuento de reticulocitos y estudia el frotis sanguíneo.

2. Fundamento Teórico

Los reticulocitos son eritrocitos inmaduros que contienen una red cromática compuesta por restos de ARN, y tiene mucha importancia en sangre periférica porque nos permite:

- Evaluar la capacidad de la médula ósea de generar hematíes nuevos
- Diferenciar entre las causas de anemia
- Monitorizar la respuesta de la médula ósea y su recuperación funcional, tras quimioterapia o trasplante de médula ósea.
- Seguimiento después de un tratamiento de anemia por deficiencia de ferropénica, Vit. B12, folato o insuficiencia renal.

El análisis se suele indicar cuando se observa:

- Descenso de los hematíes
- Descenso de la Hb
- Descenso del HTO y/o síntomas de anemia.
- Para evaluación de la funcionalidad de la médula ósea

Podemos observar los reticulocitos en el microscopio haciendo uso de coloraciones vitales como el azul cresil brillante y azul de metileno nuevo, los que colorean los restos de ARN y se puede observar como filamentos de color azul intenso en el interior de la célula, de acuerdo al grado de madurez presenta un modelo de retículo distinto más denso en los más inmaduros a gránulos escasos en los más maduros.

El frotis sanguíneo es muy importante porque nos permite conocer como se encuentran las series celulares en cuanto a la proporción que presenten en la serie blanca (fórmula diferencial), si éstos leucocitos tienen morfología normal o tal vez presenten alteraciones como granulaciones tóxicas, vacuolizaciones, hipogranulaciones, hiposegmentaciones, etc. También podríamos estudiar la morfología eritroide, si es normal o presenten alteraciones del color, de forma o de tamaño, otras como multinuclearidad nuclear de los eritroblastos, etc. De igual forma podríamos verificar la serie plaquetaria, si se encuentra normal en cuanto a número de plaquetas o tal vez se encuentre disminuida o incrementada, si éstas son normales morfológicamente o quizás presenten alteraciones morfológicas como hipogranulaciones o agranulaciones, si hay alguna alteración en cuanto a tamaño en el caso de macroplaquetas o megaloplaquetas. También podemos observar si hubiera la presencia de parásitos sanguíneos como los plasmodium, etc. Y las inclusiones eritroides que pudieran presentar. De ahí la importancia de que el tecnólogo médico debe estar bien capacitado y concientizado de la importancia de la realización de un buen frotis sanguíneo, perfectamente coloreado que puede brindarnos mucha información, que juntamente con lo brindado por el equipo hematológico pueda servir de mucho en el diagnóstico laboratorial de nuestros pacientes.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.4 Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Equipo automatizado de hematología	3 ó 5 diferenciales	1 unid.



2	Microscopios	binoculares	6 unid.
3	Baño maría	A 37°C	1 unid.

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Gradillas	Plástico y/o metal	6 unid.

3.4.

3.5. Reactivos

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

4. Indicaciones/instrucciones:

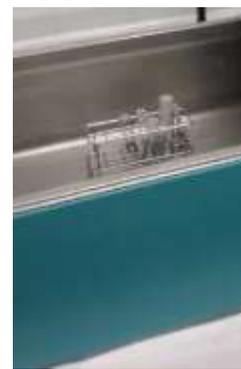
4.1 Se realizará una estricta observación de las medidas de bioseguridad durante el procesamiento de las muestras.

4.2 Se entrega los protocolos de trabajo de los procedimientos a realizar.

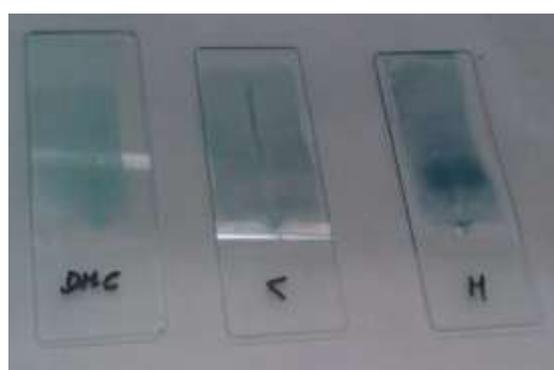
5. Procedimientos

Primero : RECuento DE RETICULOCITOS

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

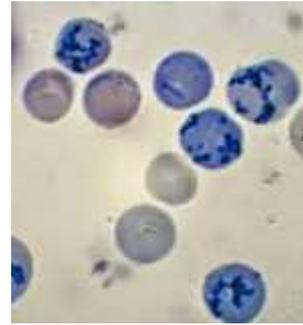
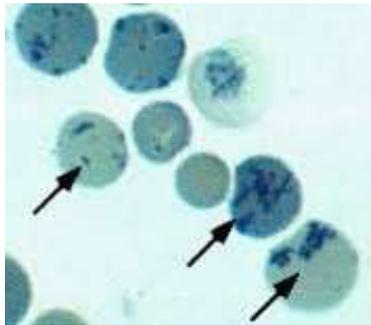


2. Incubar en el baño maría por 15 minutos (depende de la madurez del colorante, si se ha preparado recientemente se coloca por más tiempo).
3. Retirar el tubo del baño maría y con la ayuda de las pipetas pasteur o de transferencia colocar una gota muy pequeña en una lámina desengrasada. Con un extensor realizar un frotis suavemente y que de preferencia sea delgado para poder observar los glóbulos rojos sueltos.



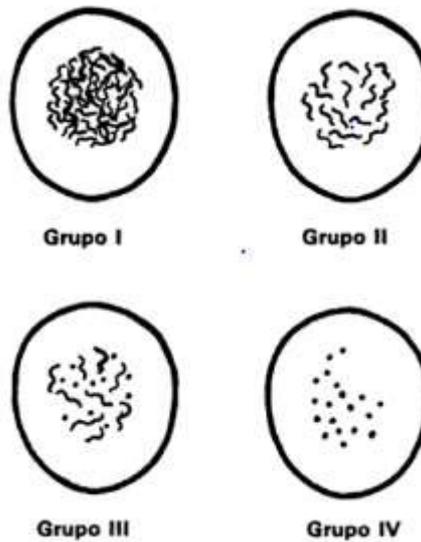
4. Observar en el microscopio con aceite de inmersión, de preferencia en los campos en donde se puedan observar a los glóbulos rojos sueltos (aproximadamente de 100 GR por

campo)



5. Contar en 10 campos de éstas características, registrando cuantos reticulocitos vemos por campo.

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



CALCULOS

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.

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



VALORES NORMALES

Adulto normal : 25,000 – 85,000 / mm³
 Recién nacidos: 100,000 – 300,000/mm³

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. **INDICE DE MADURACION RETICULOCITARIA O INDICE DE PRODUCCION 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.

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

TIEMPO DE CIRCULACION (DIAS)

RELACION DEL GRADO DE ANEMIA Y DURACION DE LOS RETICULOCITOS EN LA CIRCULACION

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 %

Segundo : FROTIS SANGUINEO



COLORACION :

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 azulófilas. Las estructuras celulares neutras se llaman neutrófilas y se colorean en rosa o en rojo-claro.

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

Procedimiento :

1. Cubrir con Wright por 3 minutos (fijación)
2. Añadir agua tamponada, hasta cubrir la lámina sin derramar, mezclar por unos 6 a 8 minutos
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.

UTILIDAD DE LAS EXTENSIONES

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

6. 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.

7. 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.

8. Sugerencias y/o recomendaciones



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

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- García Espinoza, B., Rubio Campal, F. y Crespo Gonzales, M.R. (2015). *Técnicas de análisis hematológico* (1ª ed.). España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, B. (2014). *Hematología en la práctica* (2ª ed.). Philadelphia USA: Amolca.
- Muñoz Zambrano, M.E. y Morón Cortijo, C.G. (2005). *Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología*. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre, F.J. y Moreno Campoy, E.E. (2015). *Manual para técnico superior de laboratorio clínico y biomédico* (1º ed.). Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Bernard, H.J. (2007). *El laboratorio en el diagnóstico clínico* (1º ed.). Madrid: Marbán Libros., S.L.
- Rodak, B.F. (2010). *Hematología: Fundamentos y aplicaciones clínicas* (2ª ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.



Guía de práctica N° 9

Evaluación de las alteraciones eritrocitarias

Sección : _____

Fecha : .../.../.....

Docente:

Instrucciones: Cumplir las normas de bioseguridad durante los procedimientos a realizarse. Duración: 180 minutos

1. Propósito /Objetivo :

Conoce y diferencia las alteraciones eritrocitarias.

2. Fundamento Teórico

Los eritrocitos vienen a ser el producto final de la eritropoyesis, ésta transformación dura entre 7 a 9 días normalmente. A medida que va madurando va perdiendo la basofilia citoplasmática y se transforman al sintetizar la hemoglobina en acidófila en el eritroblasto ortocromático y hematíe finalmente, la cromatina se va condensando y convirtiéndose en picnótico en el normoblasto ortocromático y expulsándolo. En los pacientes anémicos si la médula trata de compensar su disminución eritroide vamos a observar en el frotis sanguíneo un buen porcentaje de células de serie roja inmaduras que debemos de conocer e identificar. Además debemos de conocer las diferentes alteraciones relacionadas a color, forma y tamaño que son muy importantes, estudiarlas y las inclusiones eritrocitarias.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopios	binoculares	6 unid.

3.2 Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Papel lente		6 bolsitas

3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Alcohol isopropílico		6 goteros
2	Aceite de inmersión		6 goteros

4. Indicaciones/instrucciones:

4.1 Se realizará una estricta observación de las medidas de bioseguridad durante el desarrollo de la práctica.

4.2 Se entrega los protocolos de trabajo de los procedimientos a realizar.



5. Procedimientos

Primero : ESTADIOS DE MADURACION DEL ERITROCITO

Se estudiará los diferentes estadios de maduración eritroide.

PRONORMOBLASTO

Es una célula primitiva (inmadura) de aproximadamente 25m a 35m de diámetro, citoplasma basófilo, presencia de 1 a 2 nucléolos, existe una condensación ligera de la cromatina, citoplasma ligeramente excéntrico.

Esta célula se divide en:

ERITROBLASTO BASÓFILO

Es ligeramente menor que el pronormoblasto, 12m a 18m, citoplasma igualmente basófilo, pero, se diferencia del anterior en que ya no presenta nucléolos y su cromatina nuclear es más condensada ya que es un elemento menos inmaduro.

ERITROBLASTO POLICROMATÓFILO

Es una célula que mide de 12m a 16m, aunque usualmente puede ser mayor que el normoblasto basófilo, presenta núcleo excéntrico y lo que más caracteriza a esta célula es que ya presenta pequeñas cantidades de hemoglobina citoplasmática que se traduce en un color violeta (azul y rojo). Su cromatina es más condensada que la anterior.

NORMOBLASTO ORTOCROMÁTICO

Mide de 10m a 14m, esta célula es bien característica y no debe confundirse con el linfocito ya que prácticamente es un hematíe nucleado, como también se le conoce. Presenta su citoplasma rosado, núcleo totalmente excéntrico como una bola maciza. Este normoblasto ya no se divide, sino que pierde su núcleo por un mecanismo de expulsión y se convierten en:

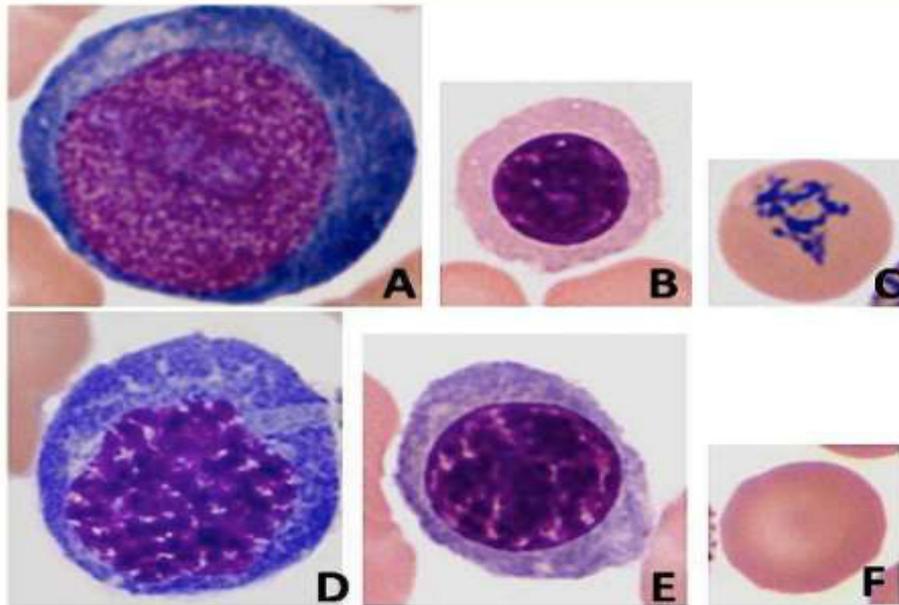
RETICULOCITOS

Estos todavía presentan en su citoplasma restos de ARN y protoporfirina resultados de la conversión del normoblasto ortocromático a reticulocito y solo se pueden observar con coloraciones especiales. En sangre periférica se les puede observar como elementos macrocíticos y policromatófilos.

NORMOCITOS O HEMATÍES

Discos cuya biconcavidad hace que aparezcan con cierta palidez central al no captar el colorante en esa zona. Miden aproximadamente de 7,2m a 7,4m y puede llegar hasta ocho. Presenta un pigmento respiratorio que le da el color rosado característico que es la hemoglobina que se encarga del transporte de oxígeno. Más adelante se explicarán las alteraciones más frecuentes de estos elementos celulares.

CICLO DE VIDA DEL GLÓBULO ROJO:



A: PROERITROBLASTO D: ERITROBLASTO BASOFILO E:ERITROBLASTO POLICROMATOFILO
B:NORMOBLASTO ORTOCROMATICO C: RETICULOCITO F: ERITROCITO O HEMATIE

Segundo : ALTERACIONES ERITROCITARIAS

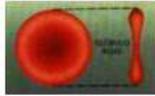
Se dividen en:

- ◆ Alteraciones en tamaño.
- ◆ Alteraciones en su forma.
- ◆ Alteraciones de color.
- ◆ Inclusiones anormales.

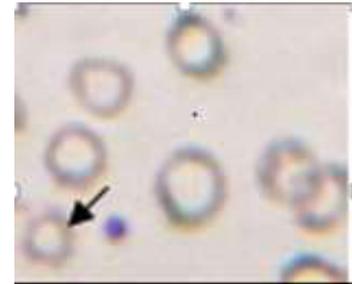
◆ Alteraciones en el tamaño

Llamadas también anisocitosis.

Macroцитos : Hematíes que presentan un tamaño superior al normal (más de 9m) y su expresión máxima es el megalocito. Suelen aparecer en la anemia megaloblástica debida a déficit de vitamina B12 o ácido fólico. Se suele observar cuando hay un aumento de la actividad eritropoyética, como un mecanismo de compensación a la pérdida de los hematíes, sea por anemia severa o hemorragias. En la sangre periférica se pueden observar como hematíes grandes policromatófilos o reticulocitos.



Eritrocito normal



Microcitos : Hematíes que presentan un tamaño inferior al normal (menos de 6m) y se encuentran en pacientes con anemia ferropénica y talasemias.

♦ Alteraciones de color

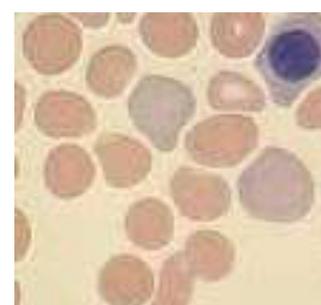
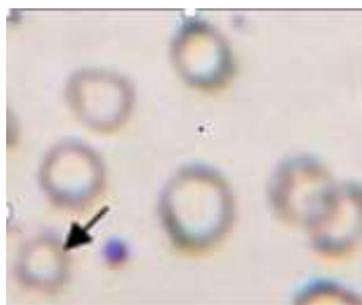
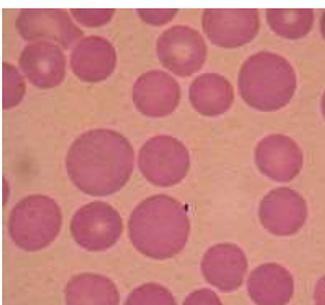
Aquí observamos las diferentes tonalidades de color de los hematíes dependiendo del contenido hemoglobínico. Tenemos:

Hipocromía : Son hematíes con disminución del contenido de la hemoglobina y dependiendo de la cantidad de este pigmento es que observamos a los hematíes con diferentes caracteres de color. Aquí están incluidos los anulocitos, que son hematíes en forma de anillo en que solo la membrana eritrocitaria está coloreada y que se traduce en una hipocromía de grado severo (+++).

Hipercromía : Son hematíes ávidos de hemoglobina. Pueden encontrarse en caso de enfermedades como la policitemia vera o la policitemia fisiológica y esferocitosis hereditaria.

Policromatofilia : Presencia de hematíes con tonalidad (azul y rojo) morada. Se le relaciona con inmadurez celular, células nucleadas, presencia de reticulocitos, macrocitos, etc. Esto debido a su elevada cantidad de ARN.

Anisocromía: Diferentes tonalidades de color como hematíes hipocrómicos, hipercrómicos, normocrómicos y policromatófilos. Se encuentran en ciertas anemias refractarias.





6. Resultados

1. El estudiante tendrá la capacidad de diferenciar los estadios de maduración eritroide.
2. Podrá reconocer las alteraciones eritrocitarias de tamaño y color.

7. Conclusiones

- 7.1** Los hematíes son el estado final de maduración de la serie eritroide y carece de organelas y núcleo.
- 7.2** Los eritrocitos pueden presentar diferentes tamaños desde microcitos a macrocitos, y de color desde eritrocitos hipocrómicos a hiperocrómicos, pero normalmente tienen una zona clara central de 3 mm aproximadamente.

8. Sugerencias y /o recomendaciones

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

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- García Espinoza, B., Rubio Campal, F. y Crespo Gonzales, M.R. (2015). *Técnicas de análisis hematológico* (1ª ed.). España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, B. (2014). *Hematología en la práctica* (2ª ed.). Philadelphia USA: Amolca.
- Muñoz Zambrano, M.E. y Morón Cortijo, C.G. (2005). *Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología*. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre, F.J. y Moreno Campoy, E.E. (2015). *Manual para técnico superior de laboratorio clínico y biomédico* (1ª ed.). Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Bernard, H.J. (2007). *El laboratorio en el diagnóstico clínico* (1ª ed.). Madrid: Marbán Libros., S.L.
- Rodak, B.F. (2010). *Hematología: Fundamentos y aplicaciones clínicas* (2ª ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.



Guía de práctica N° 10

Evaluación de los alteraciones eritrocitarias: forma e inclusiones

Sección :

Fecha : .../.../.....

Docente:

Instrucciones: Cumplir las normas de bioseguridad durante los procedimientos a realizarse. Duración: 180 minutos

1. Propósito /Objetivo :

Conoce y diferencia las alteraciones eritrocitarias de forma e inclusiones.

2. Fundamento Teórico

Las variaciones de forma de los eritrocitos siempre se relacionan con la fisiopatología eritroide, y pueden conducirnos a descubrir los problemas hematológicos de los pacientes, por ejemplo pueden ser por producción disminuida de eritrocitos, o destrucción incrementada de los mismos, o talvez problemas de la función esplénica deficiente.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.2. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopios	binoculares	6 unid.

3.2 Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Papel lente		7 bolsitas

3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Alcohol isopropílico		6 goteros
2	Aceite de inmersión		6 goteros

4. Indicaciones/instrucciones:

4.1 Se realizará una estricta observación de las medidas de bioseguridad durante el desarrollo de la práctica.

4.2 Se entrega los protocolos de trabajo de los procedimientos a realizar.

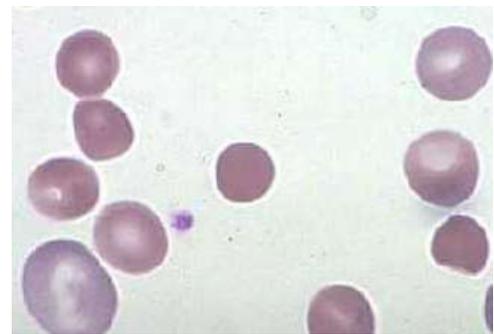
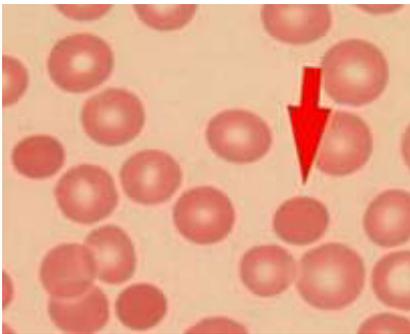
5. Procedimientos

Primero : Alteraciones de forma

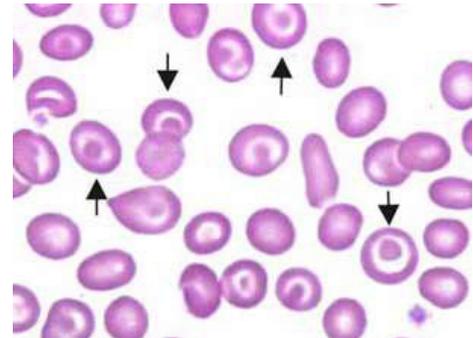
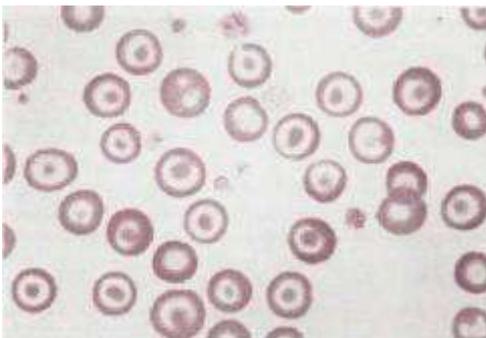
Llamadas también poiquilocitosis. Entre éstos tenemos:

Eserocitos : Son hematíes esféricos como unas pelotas, no son bicóncavos, presentan un diámetro inferior al normal pero más grueso.

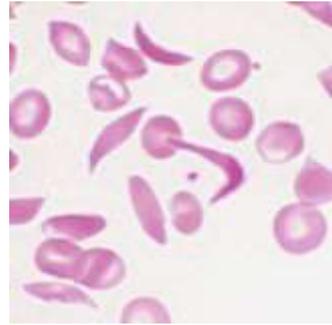
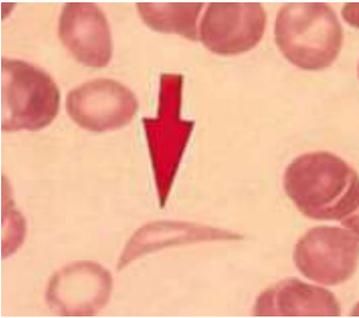
Su vida media es de 14 días, producen taponamiento de los vasos sanguíneos. Se encuentran en la enfermedad esferocitosis hereditaria o enfermedad de Minkowski-Chauffard (defecto congénito de la membrana eritrocitaria). También pueden ser adquiridos por factores extraeritocitarios.



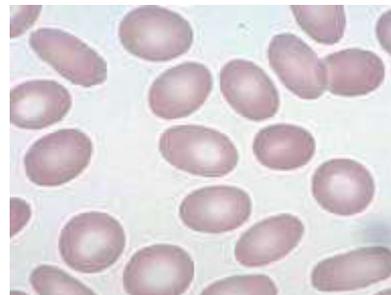
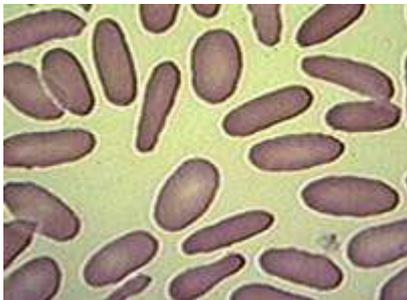
Codocitos : Llamados también dianocitos. En la región central presentan un área con mayor contenido hemoglobínico (zona densa). La interfase entre la membrana celular y el centro es transparente. Se encuentran en hemoglobinopatías, talacemias, anemia ferropénica y en algunas hepatopatías crónicas con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



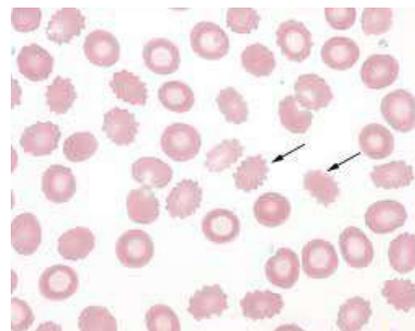
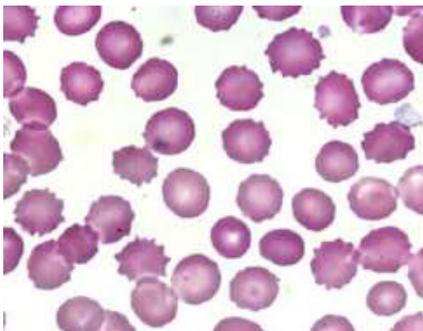
Drepanocitos : Son hematíes cuya membrana hemática se altera y se hace falciforme (forma de hoz o media luna). Su apariencia es propia del estado homocigoto de la hemoglobina S. Su enfermedad se conoce como drepanocitosis hereditaria.



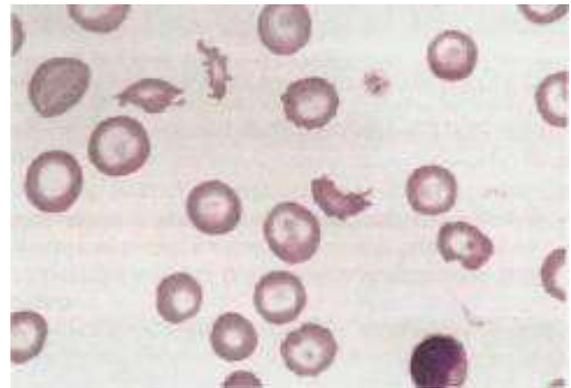
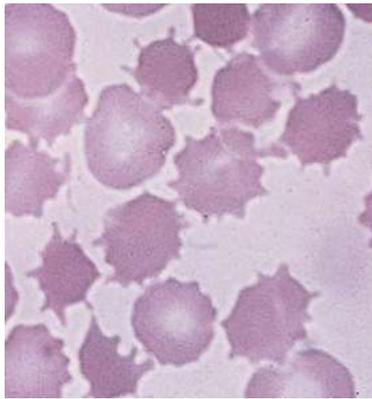
Eliptocito : Los hematíes son alargados (ovalocitos). Se encuentran en la enfermedad llamada ovalocitosis hereditaria. Su presencia se debe a una alteración congénita de la membrana del hematíe, aunque puede ser adquirida en caso de una anemia megaloblástica, ferropénica o arregenerativa.



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.



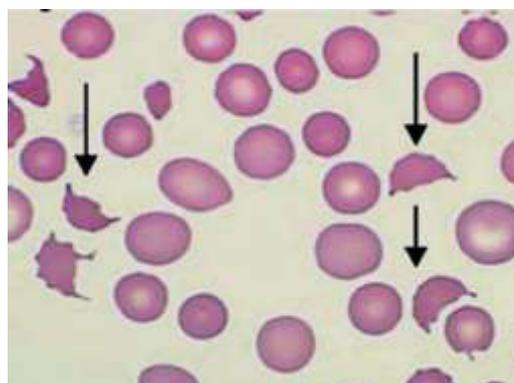
Acantocitos : Las prominencias de la membrana eritrocitaria son distribuidas irregularmente y de diferente longitud. Aparecen por ejemplo en cirrosis hepática.



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 cardíacas.

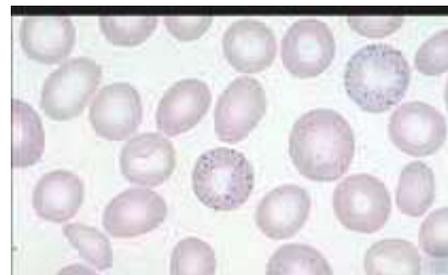
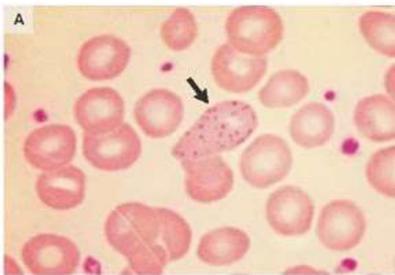


Estomatocitos : Son hematíes que en lugar de una depleción central clara tienen una banda pálida central que les da un aspecto de boca. Se hereda como carácter autosómico dominante. Esta enfermedad es causada por anomalía hereditaria de la membrana eritrocitaria.

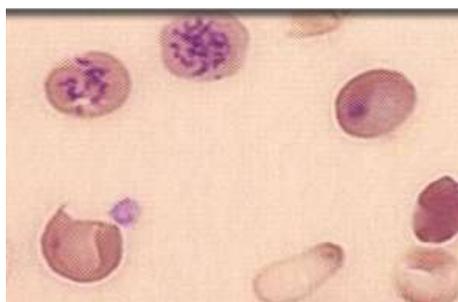


Segundo : INCLUSIONES ERITROCITARIAS

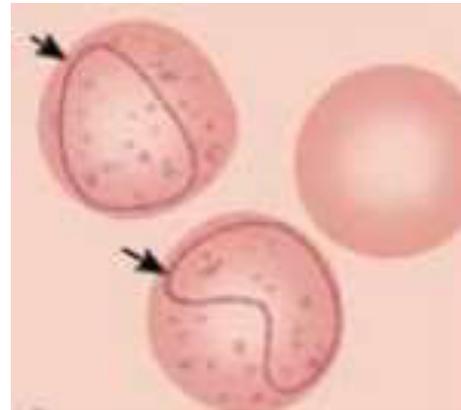
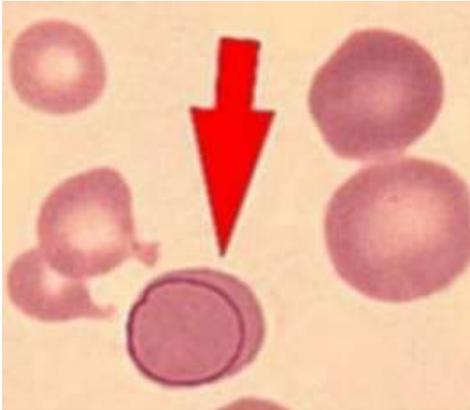
Punteado basófilo : Son gránulos basófilos presentes en el citoplasma de los hematíes. Puede tratarse de un reticulocito por su elevado contenido de ARN. Se encuentra en una intoxicación por plomo llamada saturnismo.



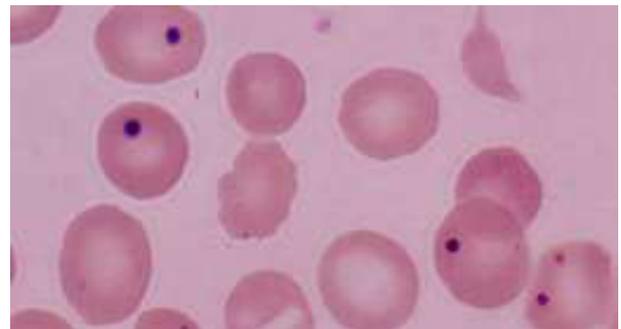
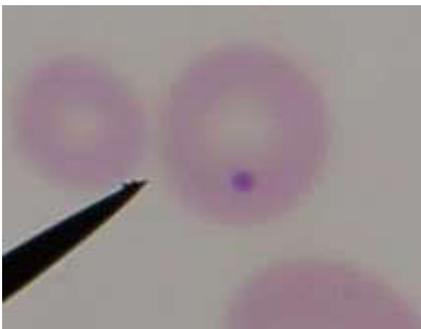
Cuerpos de Heinz : Son formaciones redondeadas de hasta 3µ de diámetro localizadas habitualmente en la periferia de la célula. Se observan con colorantes para reticulocitos. Estos cuerpos son abundantes en sujetos esplenectomizados.



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.



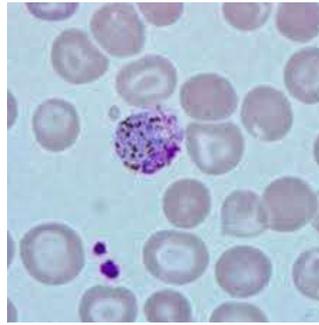
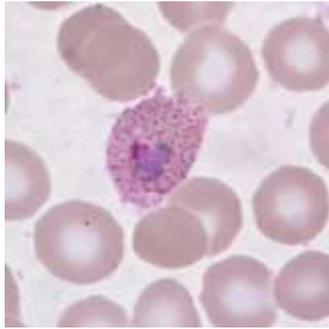
Cuerpos de Howell-Jolly : Son restos de cromatina nuclear, resultados de la pérdida del núcleo por parte del normoblasto ortocromático hasta la conversión del hematíe. Se les considera signos de regeneración celular. Se observan en pacientes esplenectomizados.



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*.

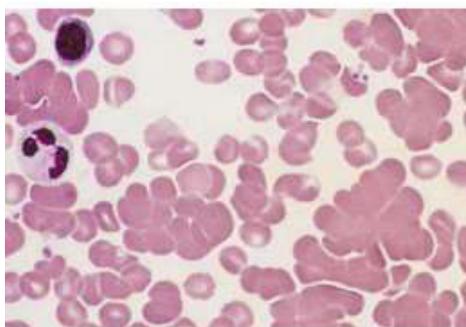


OTROS HALLAZGOS MORFOLOGICOS

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

6. Resultados

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

7. Conclusiones

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

8. Sugerencias y /o recomendaciones

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

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- García Espinoza, B., Rubio Campal, F. y Crespo Gonzales, M.R. (2015). *Técnicas de análisis hematológico* (1ª ed.). España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, B. (2014). *Hematología en la práctica* (2ª ed.). Philadelphia USA: Amolca.
- Muñoz Zambrano, M.E. y Morón Cortijo, C.G. (2005). *Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología*. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre, F.J. y Moreno Campoy, E.E. (2015). *Manual para técnico superior de laboratorio clínico y biomédico* (1º ed.). Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Bernard, H.J. (2007). *El laboratorio en el diagnóstico clínico* (1º ed.). Madrid: Marbán Libros., S.L.
- Rodak, B.F. (2010). *Hematología: Fundamentos y aplicaciones clínicas* (2ª ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.



Guía de práctica N° 11

Identifica e interpreta las anemias ferropénicas y megaloblásticas

Sección : _____ Docente:

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

Instrucciones: Cumplir las normas de bioseguridad durante los procedimientos a realizarse.

1. Propósito /Objetivo :

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

2. Fundamento Teórico

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.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.3. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Equipo hematológico	Tres o cinco diferenciales	1 unid.
2	Microscopios	binoculares	6 unid.

3.2 Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Papel lente		8 bolsitas

3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Alcohol isopropílico		6 goteros
2	Aceite de inmersión		6 goteros

4. Indicaciones/instrucciones:

4.1 Se realizará una estricta observación de las medidas de bioseguridad durante el desarrollo de la práctica.



5. Procedimientos

Primero :

1. Observaremos los histogramas de pacientes anémicos, y los clasificaremos de acuerdo a las constantes corpusculares:
VCM, CHCM, RDW, Hb, Hto, RBC.
2. Los clasificaremos morfológicamente de acuerdo a 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 macrocíticos, 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.

6. 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.

7. 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 a un paciente con anemia macrocítica se le realizará un dosaje de vitamina B12 y ácido fólico para descartar si la causa es de tipo carencial.

8. Sugerencias y /o recomendaciones

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

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- García Espinoza, B., Rubio Campal, F. y Crespo Gonzales, M.R. (2015). *Técnicas de análisis hematológico* (1ª ed.). España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, B. (2014). *Hematología en la práctica* (2ª ed.). Philadelphia USA: Amolca.



- Muñoz Zambrano, M.E. y Morón Cortijo, C.G. (2005). *Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología*. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre, F.J. y Moreno Campoy, E.E. (2015). *Manual para técnico superior de laboratorio clínico y biomédico* (1º ed.). Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Bernard, H.J. (2007). *El laboratorio en el diagnóstico clínico* (1º ed.). Madrid: Marbán Libros., S.L.
- Rodak, B.F. (2010). *Hematología: Fundamentos y aplicaciones clínicas* (2ª ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.



Guía de práctica N° 12

Las anemias hemolíticas y fragilidad osmótica

Sección : _____ Docente:

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

Instrucciones: Cumplir las normas de bioseguridad durante los procedimientos a realizarse.

1. Propósito /Objetivo :

Conoce e identifica las alteraciones en las anemias hemolíticas.

2. Fundamento Teórico

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.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.4. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Equipo hematológico	Tres o cinco diferenciales	1 unid.
2	Microscopios	binoculares	6 unid.
3	Centrífuga de tubos		2 unid

3.2 Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Papel lente		9 bolsitas
2	Tubos de vidrio	13 x 100	40 unid
3	Pipeta pasteur	Con goteros	6 unid.
4	Tubos con EDTA	4 ml	2 unid
5	Agujas	21 x 1	2 unid.
6	Ligadura		2 unid
7	Adaptadores de agujas		2 unid

3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Alcohol isopropílico		6 goteros
2	Aceite de inmersión		6 goteros
3	Solución fisiológica 9/1000		1 frasco
4	Agua destilada		0.5. lt.

4. Indicaciones/instrucciones:

4.1 Se realizará una estricta observación de las medidas de bioseguridad durante el desarrollo de la práctica.

5. Procedimientos

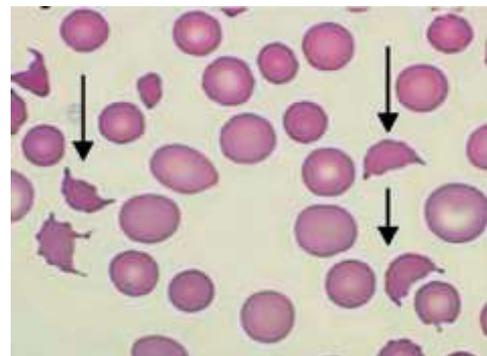
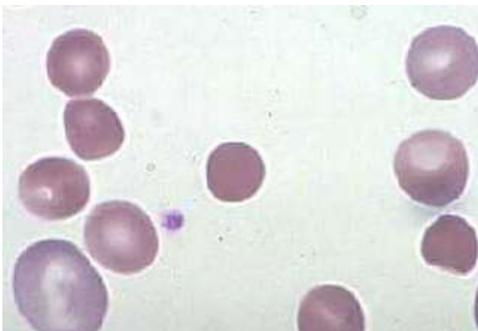
Primero : ANEMIAS HEMOLITICAS

1. Observaremos los histogramas de pacientes anémicos, y los clasificaremos de acuerdo a las constantes corpusculares:

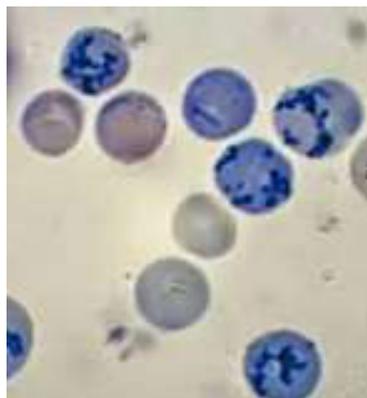
VCM, CHCM, RDW, Hb, Hto, RBC.

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

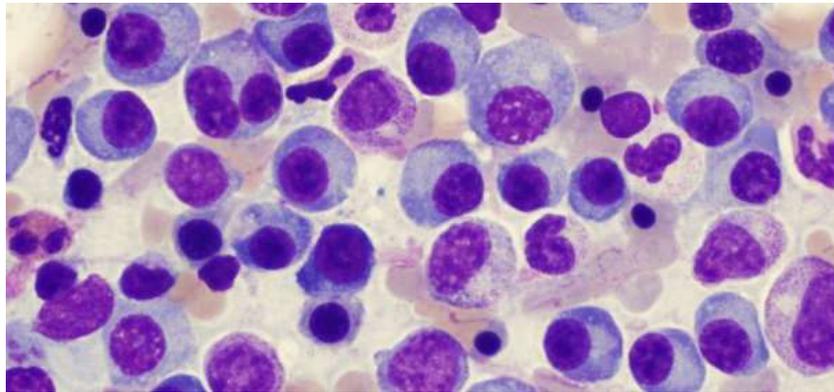
2. Observaremos la morfología eritrocitaria



3. 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.

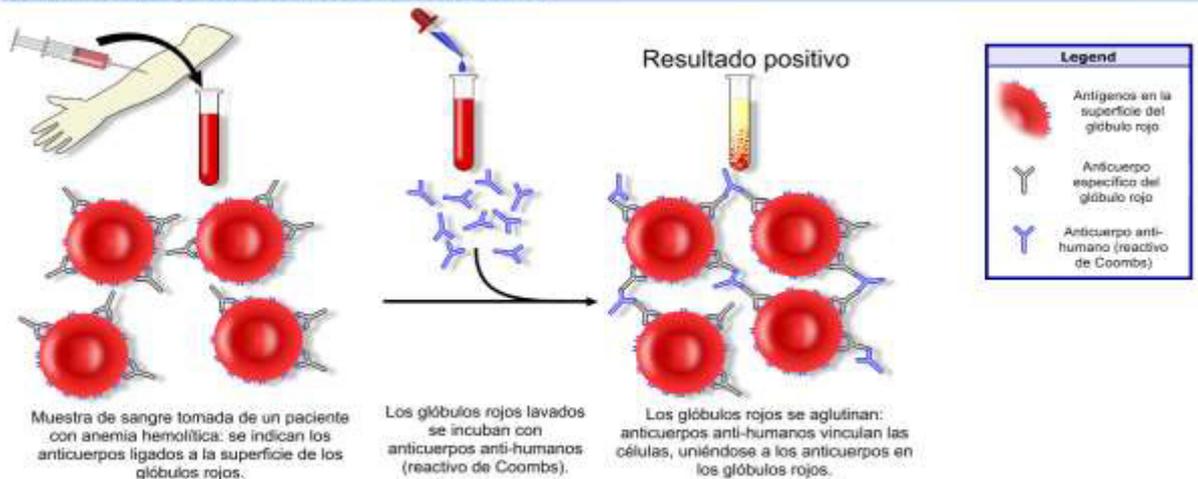


- Si observamos la presencia de hematíes nucleados sería muy importante realizar su recuento, llegando incluso si existe un porcentaje considerable a realizar el cálculo de leucocitos verdaderos.



- Los estudios bioquímicos también son muy importantes, y tendríamos que realizar las bilirrubinas totales y fraccionadas, el LDH y las haptoglobinas.
- El estudio del coombs directo es muy importante.

Prueba de Coombs directa



- 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.
- Realizaremos las exposiciones de los casos estudiados.

SEGUNDO : FRAGILIDAD OSMOTICA



El estudio de la fragilidad osmótica de los hematíes valora la resistencia de los eritrocitos a soluciones de presión osmótica decreciente, en condiciones constantes de pH y de temperatura. Para ello, se enfrentan los hematíes problema a soluciones tamponadas de cloruro sódico cuya concentración es decreciente a partir de 9 gramos por mil (soluciones hipotónicas).

Cuando los eritrocitos están en contacto con soluciones hipotónicas, penetra agua a través de su membrana y se hinchan. Al hincharse los hematíes, una parte de la Hb que contienen puede salir al exterior a través de los poros de su membrana. Si la entrada de líquido es excesiva, los hematíes se rompen y dejan libre toda la Hb que engloban(hemólisis).

En condiciones normales, un eritrocito puede aceptar sin hemolizarse una entrada de agua que incremente su volumen en un 70% como máximo.

1. Preparar una batería de soluciones de cloruro sódico, a concentraciones decrecientes, de la forma que indica a continuación:

Tubo nº	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Agua destilada (Gotas)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Suero fisiológico tamponado (gotas)	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
Concentración obtenida (en g/l)	9	8,5	8	7,5	7	6,5	6	5,5	5	4,5	4	3,5	3	2,5	2	1,5	1	0,5

2. Añadir a cada tubo 1 gota (0,05 ml = 50 µl) de sangre completa. Esto ha de hacerse de forma que la gota llegue a la solución de cloruro sódico sin que toque la pared interna del tubo.
3. Agitar suavemente los tubos.
4. Dejar los tubos en reposo, al menos 30 minutos, a temperatura ambiente (unos 25 °C)
5. Centrifugar los tubos a 2000 revoluciones por minuto (rpm), durante 5 minutos. En vez de centrifugar los tubos, también se pueden dejar simplemente en reposo, durante 3 horas.
6. La lectura puede ser visual o espectrofotométrica, si es visual observar en donde empieza la hemólisis.

6. Resultados

- a. El estudiante tendrá la capacidad de diferenciar y caracterizar a las anemias hemolíticas



b. El estudiante tendrá la capacidad de realizar el test de fragilidad osmótica.

7. Conclusiones

- 7.1 Se tiene que realizar una serie de estudios para diferenciar la anemia hemolítica.
- 7.2 El test de fragilidad osmótica se usa en estudios de posibles casos de esferocitosis hereditaria.

8. Sugerencias y /o recomendaciones

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

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- García Espinoza, B., Rubio Campal, F. y Crespo Gonzales, M.R. (2015). *Técnicas de análisis hematológico* (1ª ed.). España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, B. (2014). *Hematología en la práctica* (2ª ed.). Philadelphia USA: Amolca.
- Muñoz Zambrano, M.E. y Morón Cortijo, C.G. (2005). *Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología*. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre, F.J. y Moreno Campoy, E.E. (2015). *Manual para técnico superior de laboratorio clínico y biomédico* (1º ed.). Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Bernard, H.J. (2007). *El laboratorio en el diagnóstico clínico* (1º ed.). Madrid: Marbán Libros., S.L.
- Rodak, B.F. (2010). *Hematología: Fundamentos y aplicaciones clínicas* (2ª ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.



Guía de práctica N° 13

Tiempo de sangría y recuento de plaquetas

Sección : _____ Docente:

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

Instrucciones: Cumplir las normas de bioseguridad durante los procedimientos a realizarse.

1. Propósito /Objetivo :

Realiza correctamente el tiempo de sangría

2. Fundamento Teórico

Mide el tiempo que demora desde la punción hasta la formación de un trombo blanco plaquetario., es una prueba que se valora in vivo para ver en que tiempo para el sangrado ocasionado por la lanceta. Este ensayo se lleva a cabo:

- Para diagnosticar ciertos padecimientos hemorrágicos.
- Antes de realizar operaciones quirúrgicas.
- Antes de efectuar una punción en el hígado o el bazo.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Equipo automatizado de hematología	3 ó 5 diferenciales	1 unid.
2	Microscopios	binoculares	6 unid.

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	lancetas	Descartables	6 unid.
2	cronómetro		3 unid.
3	Tubos con EDTA	4 ml	6 unid.
4	Papel filtro	Tiras de 1 cm x 4 cm	6 unid.
5	Agujas	21 x 1	6 unid.
6	algodón		50 r

3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Alcohol	70°	10 ml

4. Indicaciones/instrucciones:

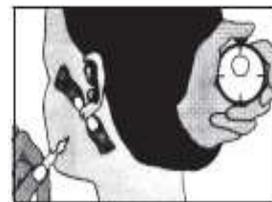
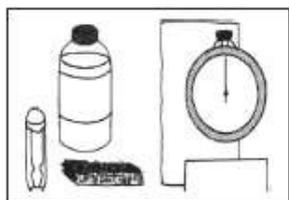
4.1 Se realizará una estricta observación de las medidas de bioseguridad durante el procesamiento de las muestras.

4.2 Se entrega los protocolos de trabajo de los procedimientos a realizar.

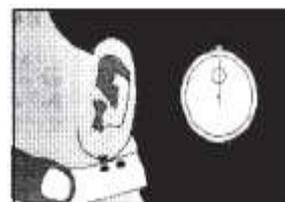
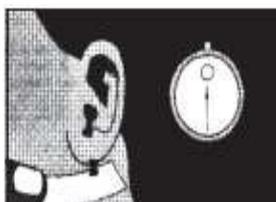
5. Procedimientos

Primero : TIEMPO DE SANGRIA

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: Recuento de plaquetas

Haremos uso del equipo automatizado para poder realizar el recuento de plaquetas y poder realizar el estudio de su histograma y los valores obtenidos relacionados a las plaquetas.

Correlacionándolo con el recuento de plaquetas indirecto en lámina.

VALORES NORMALES

150,000 – 400,000 plaquetas / mm³

6. Resultados

1. El estudiante estará en la capacidad de realizar correctamente el tiempo de sangría.



2. Analizará los parámetros de evaluación de la serie plaquetaria en el hemograma automatizado.

7. Conclusiones

7.1 El tiempo de sangría es muy importante como parte laboratorial de la hemostasia primaria.

7.2. El recuento de plaquetas nos ayuda a saber cuantos son, y si su morfología es normal o se encuentra alterada.

9. Sugerencias y/o recomendaciones

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

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- García Espinoza, B., Rubio Campal, F. y Crespo Gonzales, M.R. (2015). *Técnicas de análisis hematológico* (1ª ed.). España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, B. (2014). *Hematología en la práctica* (2ª ed.). Philadelphia USA: Amolca.
- Muñoz Zambrano, M.E. y Morón Cortijo, C.G. (2005). *Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología*. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre, F.J. y Moreno Campoy, E.E. (2015). *Manual para técnico superior de laboratorio clínico y biomédico* (1º ed.). Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Bernard, H.J. (2007). *El laboratorio en el diagnóstico clínico* (1º ed.). Madrid: Marbán Libros., S.L.
- Rodak, B.F. (2010). *Hematología: Fundamentos y aplicaciones clínicas* (2ª ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.



Guía de práctica N° 14

Evaluación vía extrínseca: Tiempo de Protrombina

Sección : Docente:

Fecha : / / Duración: 180 minutos

Instrucciones: Cumplir las normas de bioseguridad durante los procedimientos a realizarse.

1. Propósito /Objetivo :

Realiza correctamente el tiempo de protrombina

2. Fundamento Teórico

La valoración de la vía extrínseca mediante el uso del Tiempo de Protrombina, constituye una herramienta de rutina para el diagnóstico de las enfermedades hemorrágicas.

El fenómeno de la coagulación puede desencadenarse por una "vía extrínseca" (lesión tisular) o por una "vía intrínseca" (contacto de la sangre con epitelios distintos del vascular normal). La determinación del Tiempo de Protrombina o Tiempo de Quick es una prueba global para evaluar la coagulación extrínseca, siendo sensible a: factor II o protrombina, factor V o proacelerina, factor VII o proconvertina y factor X o Stuart-Prower. Por lo tanto la determinación se aplica a:

- estudios de rutina en los análisis prequirúrgicos;
- detección de alteraciones en los niveles de uno o más factores involucrados en la vía extrínseca;
- control de la terapéutica con anticoagulantes orales.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.2. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Baño maría		1 unid.
2	coagulómetro		1 unid.

3.2. Materiales

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

3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Alcohol	70°	10 ml
2	Reactivo para tiempo de protrombina	Frascos	3 unidad

4. Indicaciones/instrucciones:

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

4.2 Se entrega los protocolos de trabajo de los procedimientos a realizar.

5. Procedimientos

Primero : TIEMPO DE PROTROMBINA

- Colocar el plasma (desconocido o control) en baño de agua a 37o C durante 2-3 minutos.
- En un tubo de vidrio, colocar 0,2 ml de Reactivo reconstituido y preincubar a 37o 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.

Observaciones:

Valores de referencia

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

Resultados

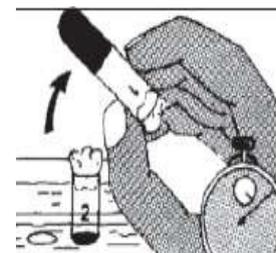
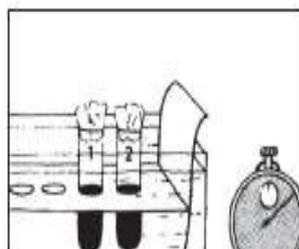
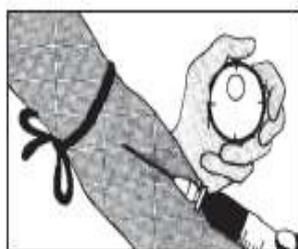
Los resultados pueden expresarse de distintas formas:

- 1- Tiempo de Protrombina o Tiempo de Quick en segundos.

Segundo: TIEMPO DE COAGULACION

Método

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.

Resultados

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.

6. Resultados

- 1. El estudiante estará en la capacidad de realizar correctamente el tiempo de protrombina.
- 2. Podrá realizar la medición del tiempo de coagulación.

7. Conclusiones

- 7.1 El tiempo de protrombina es muy importante para medir la vía extrínseca de la coagulación.
- 7.2. El tiempo de coagulación nos permite medir las alteraciones en la concentración del factor VII o XIII.

10. Sugerencias y /o recomendaciones

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

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- García Espinoza, B., Rubio Campal, F. y Crespo Gonzales, M.R. (2015). *Técnicas de análisis hematológico* (1ª ed.). España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, B. (2014). *Hematología en la práctica* (2ª ed.). Philadelphia USA: Amolca.
- Muñoz Zambrano, M.E. y Morón Cortijo, C.G. (2005). *Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología*. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre, F.J. y Moreno Campoy, E.E. (2015). *Manual para técnico superior de laboratorio clínico y biomédico* (1º ed.). Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Bernard, H.J. (2007). *El laboratorio en el diagnóstico clínico* (1º ed.). Madrid: Marbán Libros., S.L.
- Rodak, B.F. (2010). *Hematología: Fundamentos y aplicaciones clínicas* (2ª ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.



Guía de práctica N° 15

Evaluación vía intrínseca: Tiempo de Tromboplastina parcial activada

Sección : _____ Docente:

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

Instrucciones: Cumplir las normas de bioseguridad durante los procedimientos a realizarse.

1. Propósito /Objetivo :

Realiza correctamente el tiempo de tromboplastina parcial activada

2. Fundamento Teórico

El ensayo se basa en la medida del tiempo que tarda en coagular un plasma descalcificado, colocado en un baño a 37o C y en presencia de un exceso de cefalina, activador y calcio

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.3. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Baño maría		1 unid.
2	coagulómetro		1 unid.

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Tubos de vidrio	Muy limpios	12 unid.
2	cronómetro		3 unid.
3	Tubos con citrato de sodio	4 ml	12 unid.
5	Agujas	21 x 1	6 unid.
6	algodón		50 gr
7	Cups para coagulómetro		12 unid.
8	Pipetas automáticas	50 - 100 ul	6 unid.
9	Tips azules		20 unid
10	Tips amarillos		20 unid
11	Adaptadores toma muestra		6 unid.

3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Alcohol	70°	10 ml
2	Reactivo para tiempo de TPTK	Frascos	3 unidad
3	Cloruro de calcio	frasco	1 unidad

4. Indicaciones/instrucciones:

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

4.2 Se entrega los protocolos de trabajo de los procedimientos a realizar.



5. Procedimientos

Primero : TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ACTIVADA

- Precalentar 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

Resultados

Los resultados pueden expresarse como tiempo de tromboplastina parcial activada en segundos.

6. Resultados

1. El estudiante estará en la capacidad de realizar correctamente el tiempo de tromboplastina parcial activado.

7. Conclusiones

- 7.1 El tiempo de tromboplastina parcial activado nos evalúa la vía intrínseca y la vía común.

11. Sugerencias y/o recomendaciones

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

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- García Espinoza, B., Rubio Campal, F. y Crespo Gonzales, M.R. (2015). *Técnicas de análisis hematológico* (1ª ed.). España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, B. (2014). *Hematología en la práctica* (2ª ed.). Philadelphia USA: Amolca.
- Muñoz Zambrano, M.E. y Morón Cortijo, C.G. (2005). *Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología*. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.



- Mérida de la Torre, F.J. y Moreno Campoy, E.E. (2015). *Manual para técnico superior de laboratorio clínico y biomédico* (1º ed.). Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Bernard, H.J. (2007). *El laboratorio en el diagnóstico clínico* (1º ed.). Madrid: Marbán Libros., S.L.
- Rodak, B.F. (2010). *Hematología: Fundamentos y aplicaciones clínicas* (2ª ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.



Guía de práctica N° 16

Hemograma automatizado

Sección : _____ Docente:

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

Instrucciones: Cumplir las normas de bioseguridad durante los procedimientos a realizarse.

1. Propósito /Objetivo :

Realiza correctamente el procesamiento e interpretación del hemograma automatizado.

2. Fundamento Teórico

Los equipos automatizados determinan múltiples parámetros, unos por análisis directo y otros por cálculo de las tres series celulares. 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

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.4. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Equipo hematológico automatizado		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.
5	Adaptadores toma de muestra	descartables	6 unid.

3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Alcohol	70°	10 ml

4. Indicaciones/instrucciones:

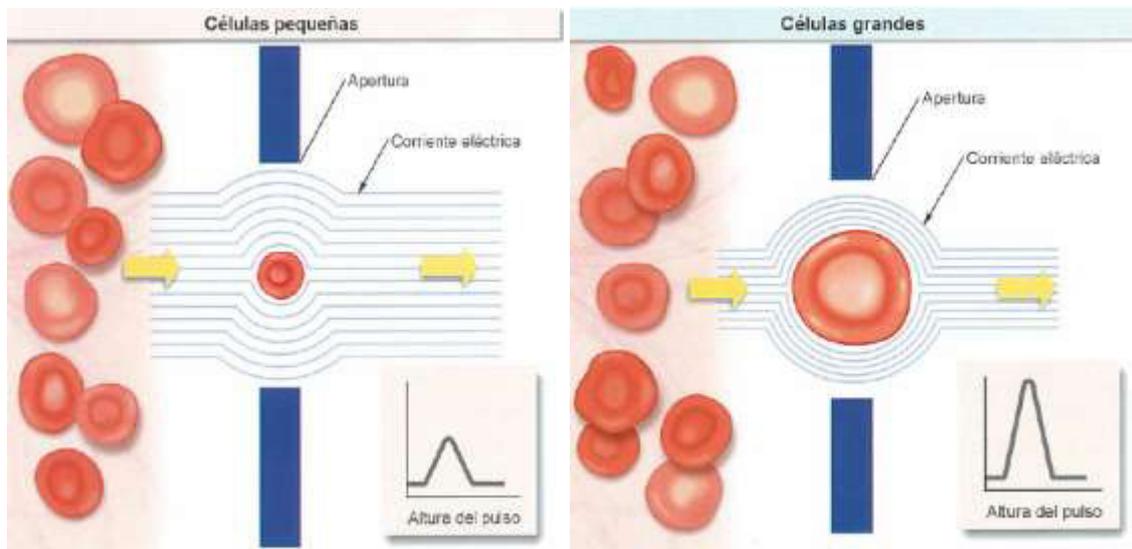
4.1 Se realizará una estricta observación de las medidas de bioseguridad durante el procesamiento de las muestras.

4.2 Se entrega los protocolos de trabajo de los procedimientos a realizar.

5. Procedimientos

Primero : FASES PARA EL ANALISIS DE SANGRE EN UN CONTADOR HEMATOLOGICO

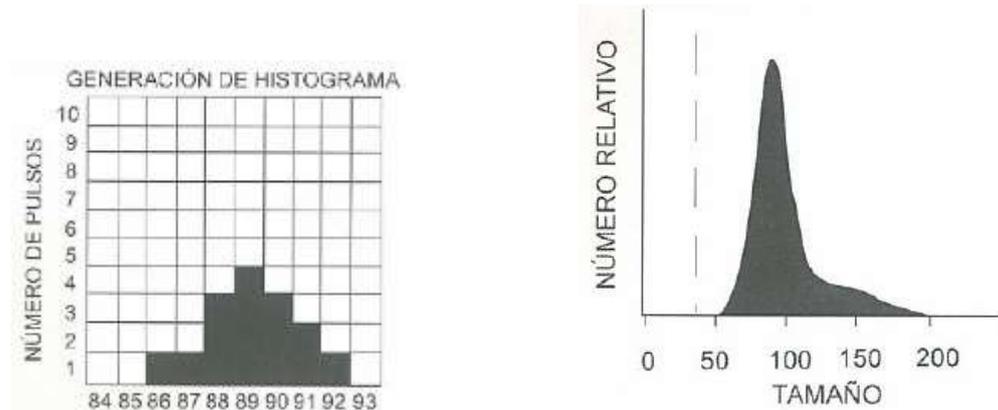
- 1º Aspiración y división de la muestra
- 2º Procesamiento de la muestra
- 3º Determinación analítica de la célula o del parámetro de interés.
- 4º Procesamiento de las señales y emisión de resultados.



IMPEDANCIA ELECTRICA PARA EL RECUENTO DE HEMATIES Y PLAQUETAS

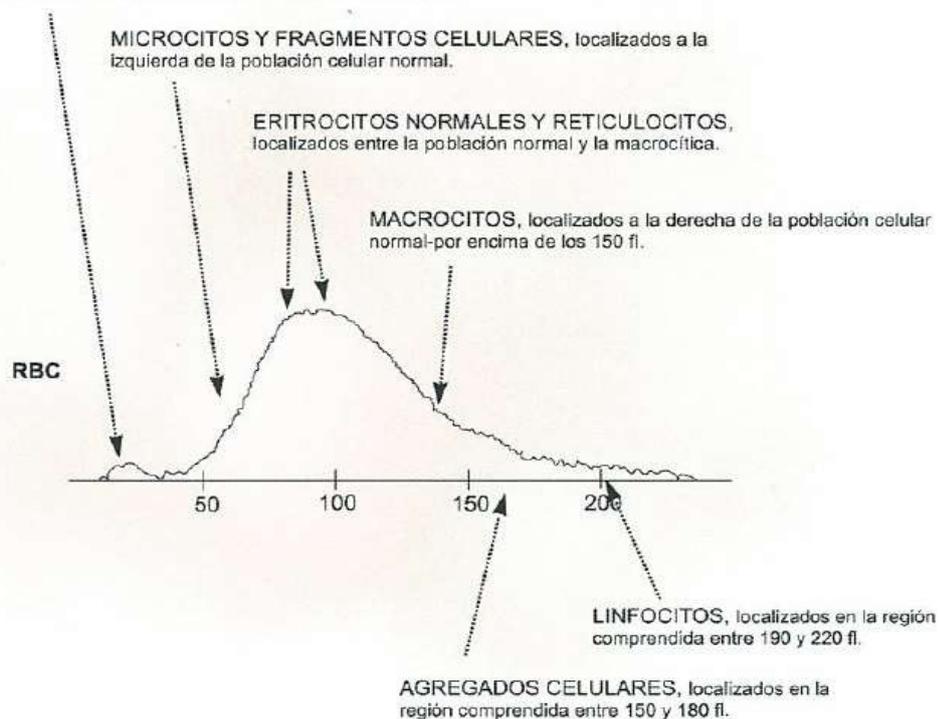
Durante la fase de conteo con esta metodología de impedancia cada partícula o célula que pase a través de la apertura generará un impulso eléctrico. La amplitud de este impulso eléctrico corresponderá de manera proporcional al tamaño de la partícula (volumen celular).

Cada impulso proveniente de eritrocitos y plaquetas es ordenado en base a su amplitud y colocado en un histograma con 256 canales o diferentes tamaños de impulso.

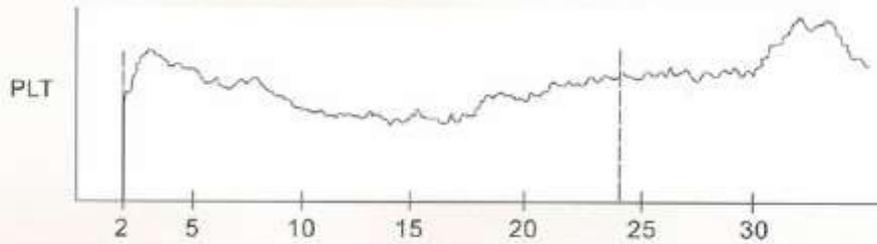


La dilución de eritrocitos contiene los tres tipos celulares. Por ello, el histograma de serie roja puede ser utilizado para mostrar gráficamente las relaciones entre cada tipo celular.

PLAQUETAS, localizadas en la región izquierda lejana.

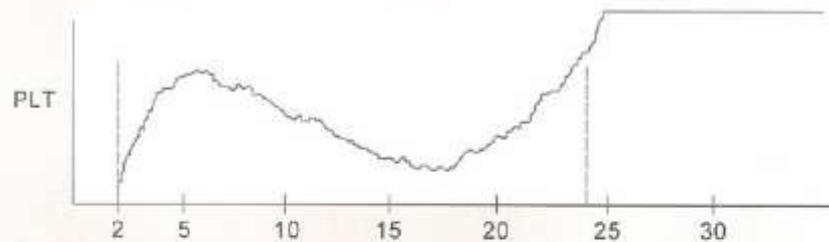


RECUENTO DE PLAQUETAS



La alarma LRI aparece acompañando a la cifra de plaquetas para indicar interferencias en la región baja (LRI); se debe a la acumulación de datos en la zona de 2-3 fl. Se activa por una o varias de las siguientes causas:

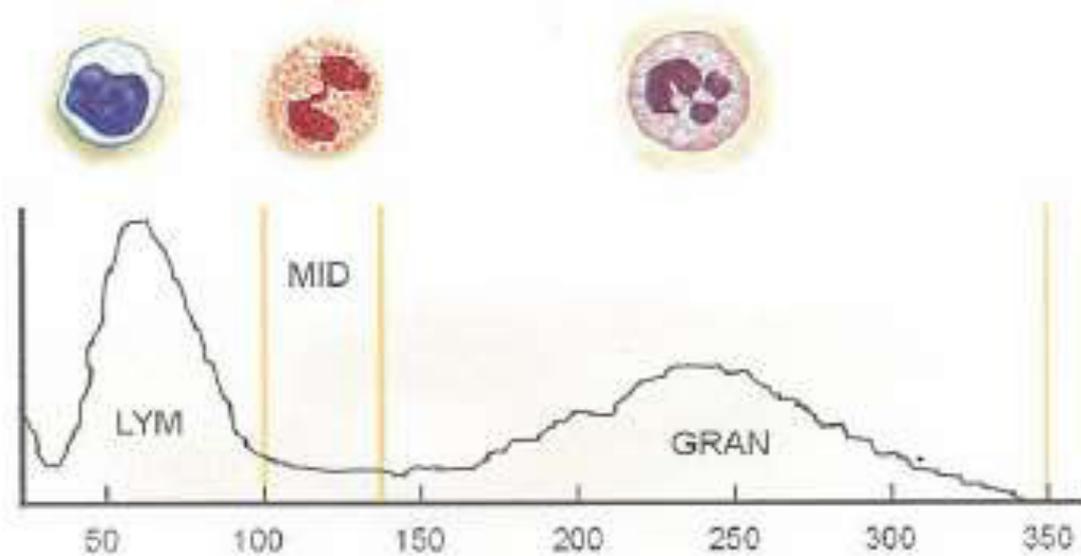
- Microplaquetas
- Fragmentos celulares
- Crioglobulinas
- Inclusiones eritrocitarias
- Hemólisis
- Residuos en el orificio del transductor



La alarma URI aparece acompañando a la cifra de plaquetas para indicar interferencias en la región alta (URI); se debe a la acumulación de plaquetas y eritrocitos entre los 20 y 40 fl. Esta alarma se activa por una o varias de las siguientes causas:

- Macroplaquetas
- Eritrocitos microcíticos
- Agregados plaquetarios
- Eritrocitos fragmentados
- Satelitosis plaquetaria

La medición del volumen de las células blancas mediante impedancia es posible gracias a la acción del reactivo lisante, el cual no realiza una lisis indiscriminada de las membranas celulares puesto que va a lisar las membranas eritrocitarias selectivamente con la ventaja adicional de liberar la Hb para su posterior medición colorimétrica. En las células blancas, el lisante va a ocasionar que la membrana se adhiera al núcleo de la célula, y va a ocasionar que la distribución del tamaño celular no sea igual a la percepción microscópica del tamaño celular.

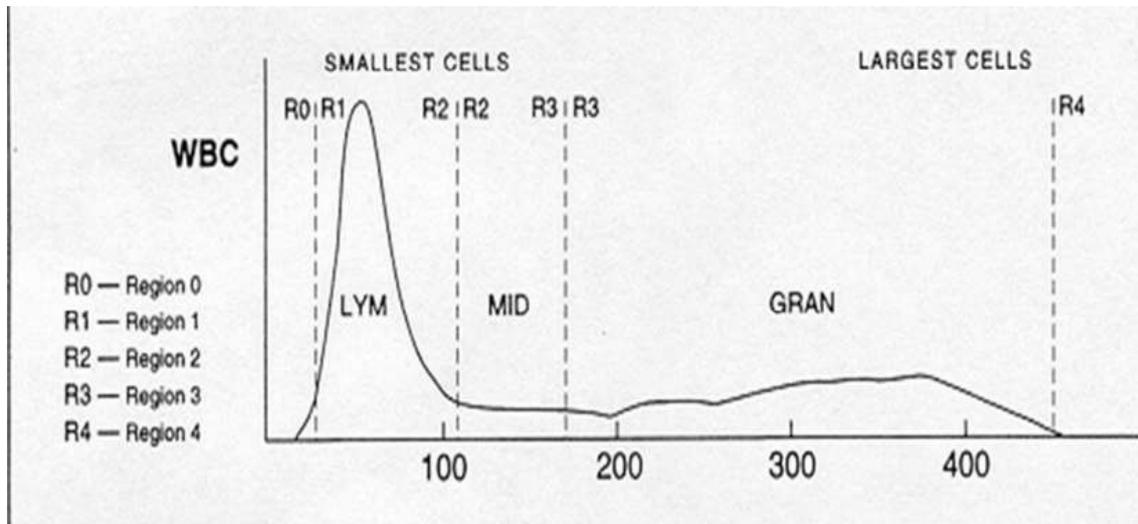


La zona de los linfocitos vá de 35 – 98 fl, también se pueden encontrar hemafes nucleados, macroplaquetas, agregados plaquetarios, eritrocitos con lisado incompleto, linfocitos atípicos o blastos.

REGION MID (MIXTOS) va de 98 a 135 fl, las células que se encuentran en ésta área son generalmente eosinófilos, basófilos, monocitos aunque pueden ubicarse también blastos y plasmocitos. El R2 se activa cuando hay mayor de células plasmáticas, eosinófilos, y basófilos. El R3 si están alrededor de los 135 fl y pueden ser los abastionados por ejemplo.

REGION GRAN (135-345 fl) generalmente se encuentran los granulocitos neutrófilos, en un 20% de casos los eosinófilos pueden ubicarse en ésta región cercana a los 135 fl y nos puede dar la alarma R3, la alarma R4 se encuentran alrededor de los 350 fl y está relacionada con granulocitosis o neutropenia.

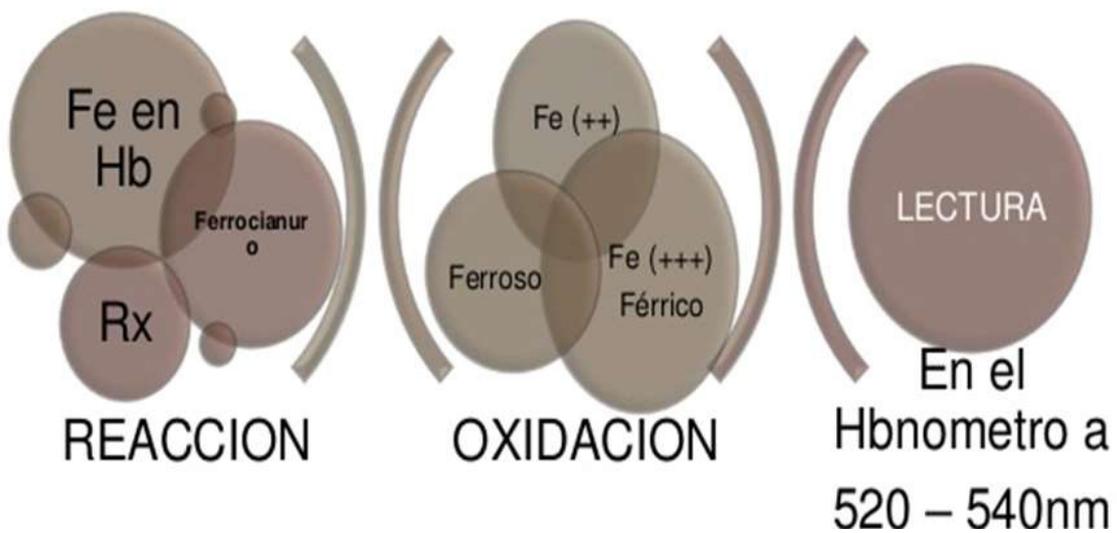
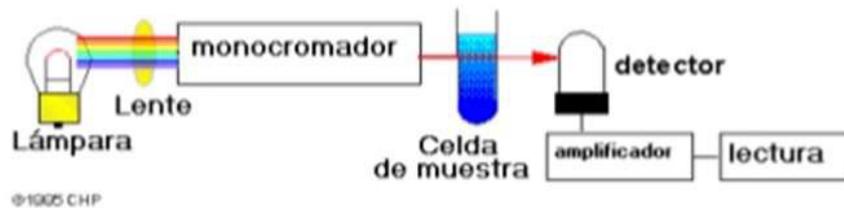
ALARMAS



EQUIPOS AUTOMATIZADOS 5 DIFERENCIALES

DOSAJE DE HEMOGLOBINA

HB





VENTAJAS DE LA AUTOMATIZACION

CALIDAD:

- ✓ Mejora la precisión y exactitud.
- ✓ Aumento de la confiabilidad de los resultados.
- ✓ Reducción del error humano (manual)

DISMINUYE EL TIEMPO DE PRODUCCION

- ✓ Procesamiento de mayor cantidad de muestras al mismo tiempo.
- ✓ Aumenta la bioseguridad.
- ✓ El análisis automatizado supera ampliamente en precisión y exactitud al análisis manual

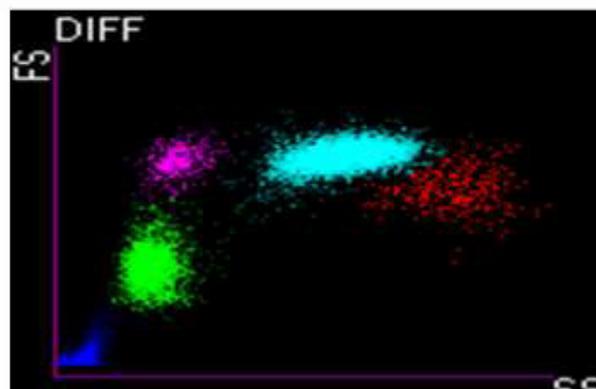
MAYOR REPRODUCIBILIDAD DE LOS RESULTADOS

REPRODUCIBILIDAD	MANUAL	AUTOMATIZADO
ERITROCITOS	11%	1%
LEUCOCITOS	16%	2%
PLAQUETAS	22%	4%
VCM	9.5%	1%
HCM	10%	1.5%

DISPERSOGRAMA / SCATTERGRAMA

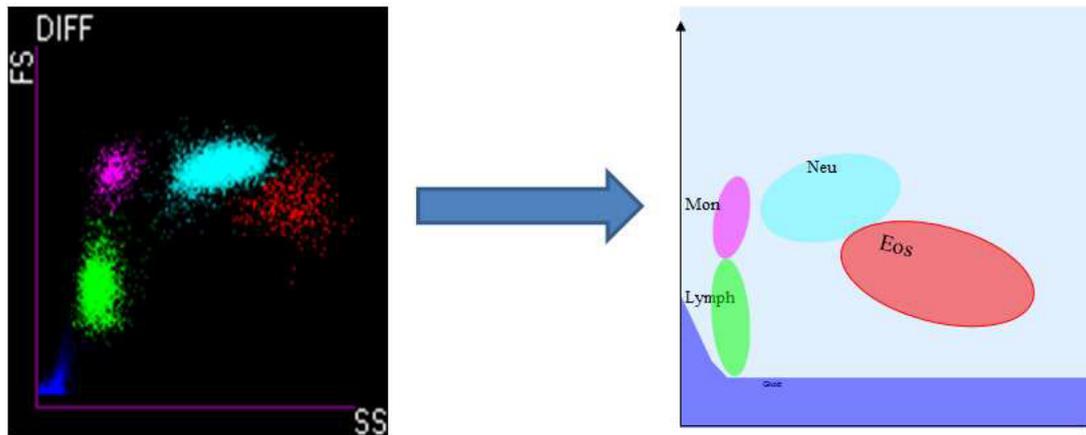
DEFINICIÓN

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.





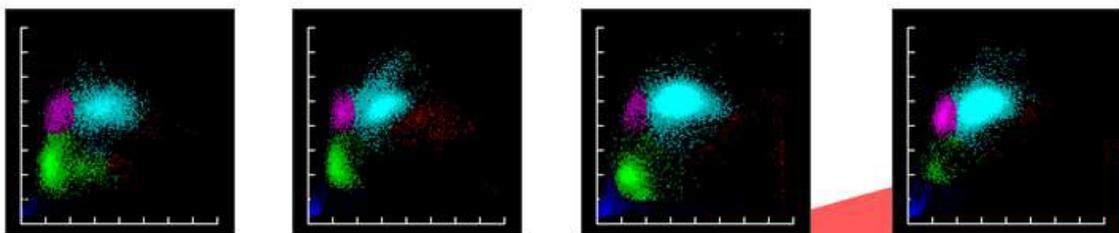
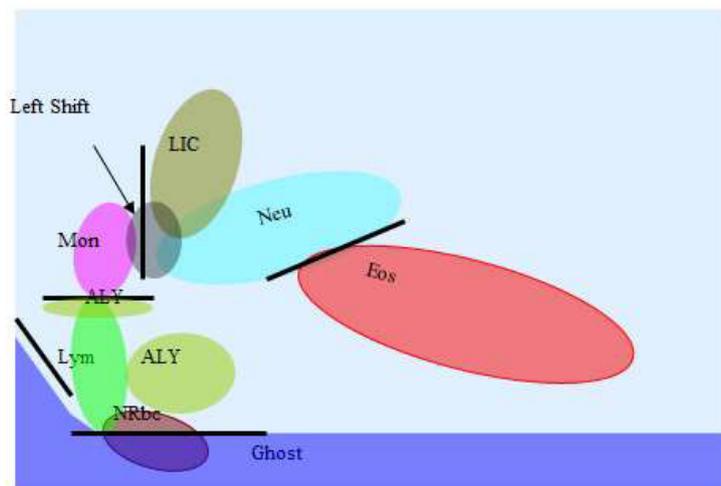
INTERPRETACIÓN DEL DISPERSOGRAMA



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

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

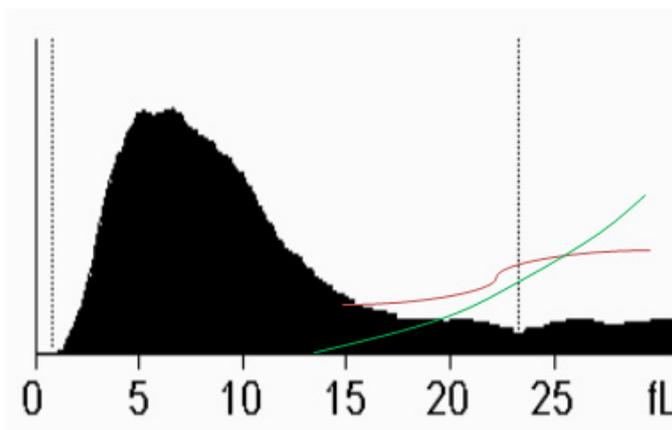
Muestras Anormales: Banderas



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 microcitosis 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.)



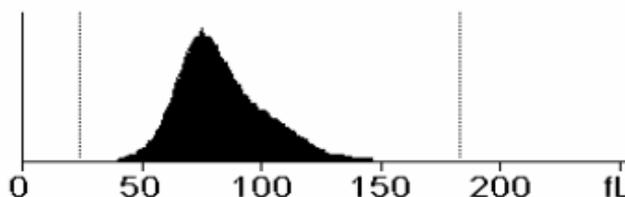
HISTOGRAMA DE GLOBULOS ROJOS

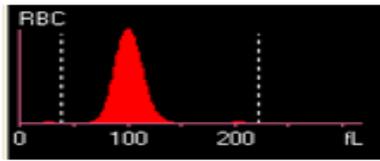
El Histograma de Glóbulos Rojos se aprecia como una distribución cercana a la normal.

Observe la distribución casi simétrica de la población con el pico de la población cercana a los 87 fL. Observe además que existen hematies debajo de los 50 fL. Y encima de los 100 fL.

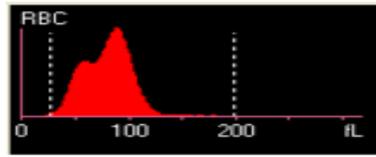
El ancho de base de la campana representa el nivel de variabilidad de la población, (Anisocitosis/poiquilocitosis)

La posición de la campana sobre el eje horizontal representa la tendencia Micro, Normo o Macro de la población.

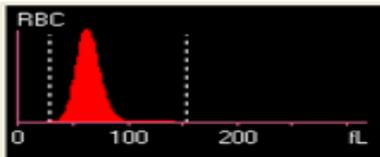




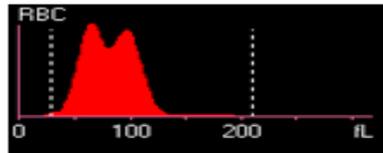
Normal people, the RBC histogram shape is in perfect Gaussian distribution.



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

Resultados

Los resultados de todos los ítems en estudio se dan en forma impresa, y con los valores de referencia considerados para cada ítem.

6. Resultados

1. El estudiante estará en la capacidad de realizar correctamente el hemograma automatizado e interpretar sus resultados emitidos e histogramas-

7. Conclusiones

7.1 El hemograma automatizado nos brinda un diagnóstico hematológico muy amplio pero que tiene que ser corroborado por el estudio del frotis sanguíneo.

12. Sugerencias y/o recomendaciones

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

Referencias bibliográficas

- García Espinoza, B., Rubio Campal, F. y Crespo Gonzales, M.R. (2015). Técnicas de análisis hematológico (1ª ed.). España: Sanidad laboratorio clínico y biomédico.
- Ciesla, B. (2014). Hematología en la práctica (2ª ed.). Philadelphia USA: Amolca.



- Muñoz Zambrano, M.E. y Morón Cortijo, C.G. (2005). *Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología*. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre, F.J. y Moreno Campoy, E.E. (2015). *Manual para técnico superior de laboratorio clínico y biomédico* (1º ed.). Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Bernard, H.J. (2007). *El laboratorio en el diagnóstico clínico* (1º ed.). Madrid: Marbán Libros., S.L.
- Rodak, B.F. (2010). *Hematología: Fundamentos y aplicaciones clínicas* (2ª ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.