



Hematología general

Guías de

Laboratorio



Visión

Ser la mejor organización de educación superior posible para unir personas e ideas que buscan hacer realidad sueños y aspiraciones de prosperidad en un entorno incierto

Misión

Somos una organización de educación superior que conecta personas e ideas para impulsar la innovación y el bienestar integral a través de una cultura de pensamiento y acción emprendedora.

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.



Índice

VISIÓN	2
MISIÓN	2
NORMAS BÁSICAS DE LABORATORIO	3
ÍNDICE	4
Primera unidad	
Guía de Laboratorio N° 1	5
Guía de Laboratorio N° 2	8
Guía de Laboratorio N° 3	11
Guía de Laboratorio N° 4	14
Segunda unidad	
Guía de Laboratorio N° 5	19
Guía de Laboratorio N° 6	24
Guía de Laboratorio N° 7	28
Tercera unidad	
Guía de Laboratorio N° 9	31
Guía de Laboratorio N° 10	35
Guía de Laboratorio N° 11	44
Guía de Laboratorio N° 12	48
Cuarta unidad	
Guía de Laboratorio N° 13	53
Guía de Laboratorio N° 14	58
Guía de Laboratorio N° 15	68



Guía de laboratorio N° 1:

Las células sanguíneas

Sección :Docente:

Fecha :/...../202.... 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:

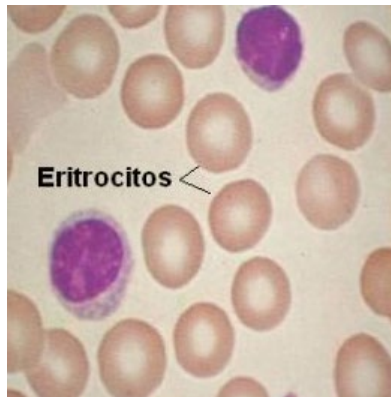
4.1 Se realizará la descripción de las partes del microscopio, y sus funciones.

4.2 Cuidados del microscopio.

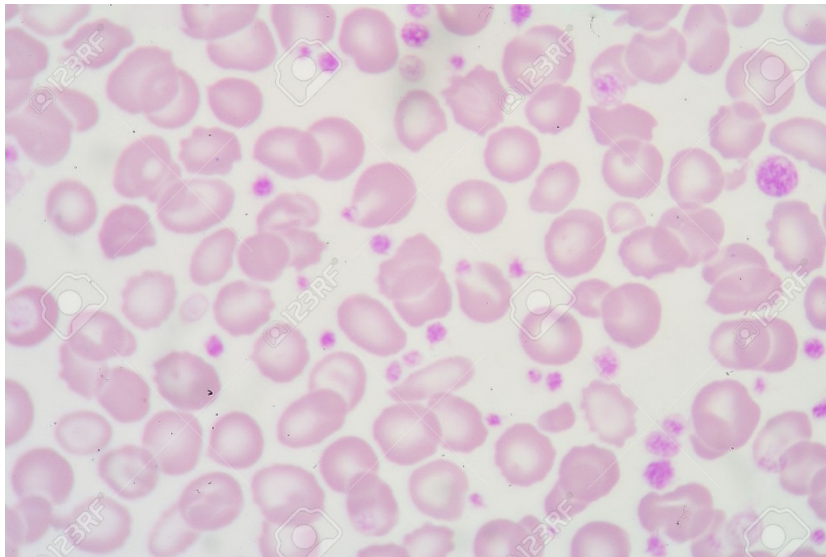
5. Procedimientos:

Primero : Reconocimiento de la serie roja

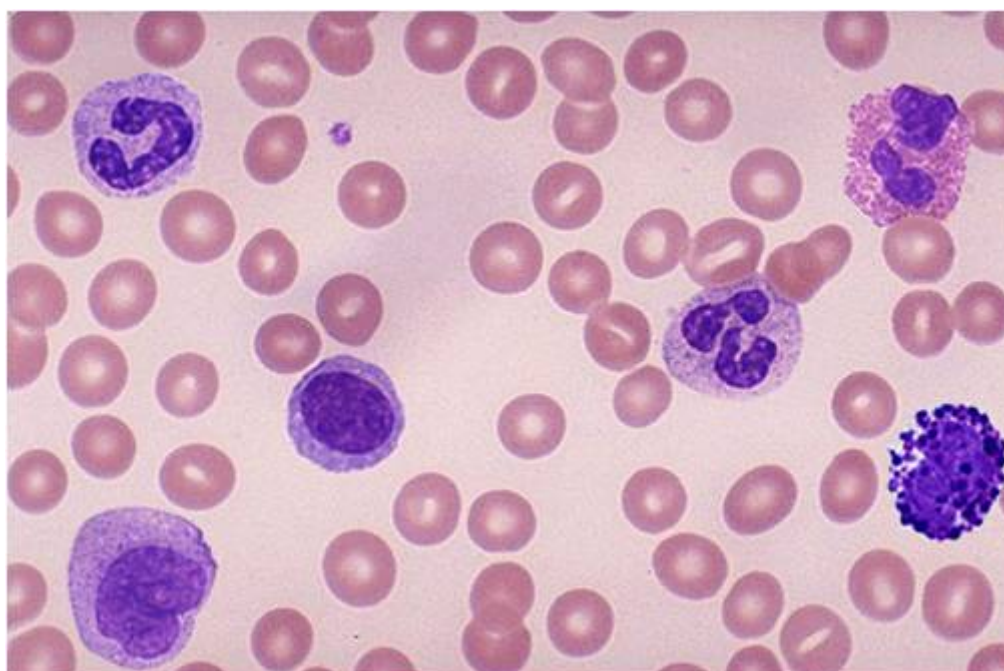
Glóbulo rojo : Son células anucleadas de color rosado y de forma redondeada u oval, con una depresión más clara en el centro. Tienen un diámetro de 7 μm , y 2 μm de espesor, forma bicóncava.

**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 mm, 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 leucocitos**

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



6. Resultados

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

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

8. Sugerencias y /o recomendaciones

.....

.....

.....

.....

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- García Espinoza, Benjamín. Rubio Campal, Faustina, Crespo Gonzales, María Rosario (2015). Técnicas de análisis hematológico. 1ª ed. España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, Betty (2014). Hematología en la Práctica. 2ª Ed. Philadelphia USA : Amolca.
- Muñoz Zambrano María E.; Morón Cortijo, Cecilia G.(2005). Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre Francisco Javier, Moreno Campoy, Elvira Eva (2015). Manual para Técnico Superior de Laboratorio Clínico y Biomédico. 1º ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Henry John Bernard. (2007). El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. 1º ed. Madrid : Marbán Libros., S.L.
- Rodak Bernadette F. (2010). Hematología : Fundamentos y Aplicaciones Clínicas. 2ª ed. Buenos Aires : Médica Panamericana.



Guía de laboratorio N° 2:

Las células sanguíneas : Los granulocitos

Sección :Docente:

Fecha :/...../202.....

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

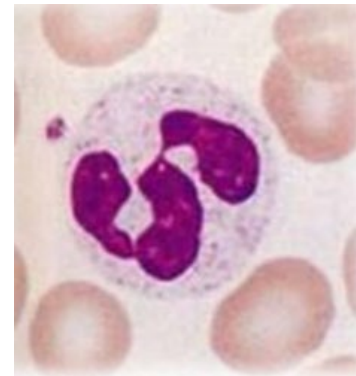
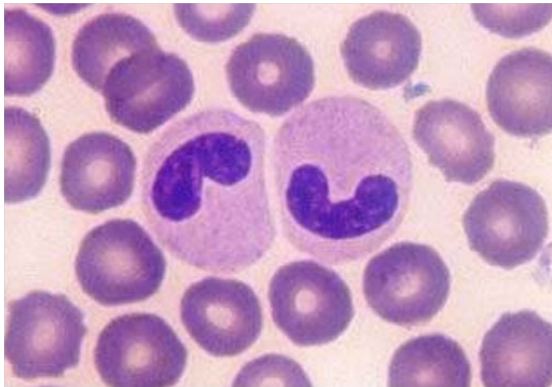
Primero :

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 um, su núcleo es de color violeta oscuro, con una cromatina densa. Su citoplasma es de color rosado con finos gránulos de color pardo



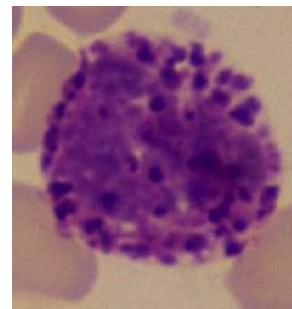
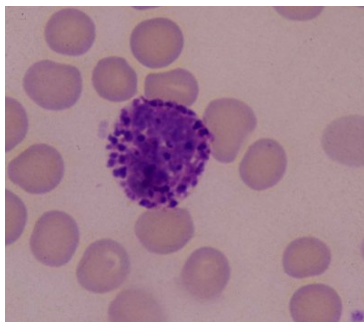
Segundo :

Basófilos

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

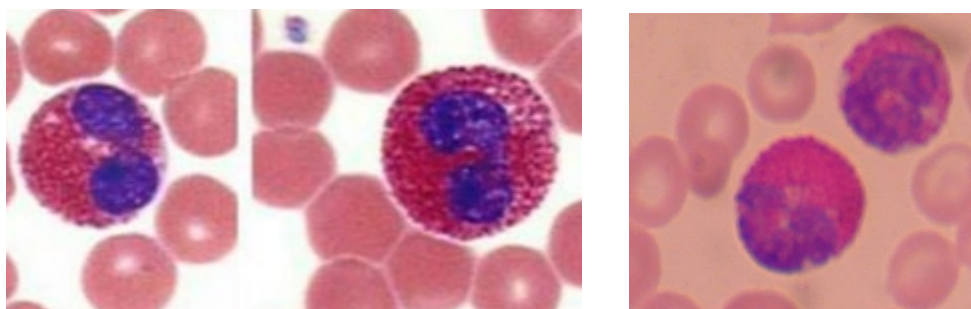
Su citoplasma está lleno de grandes gránulos fuertemente basófilos, que se tiñen de color azul intenso con los colorantes básicos, que impiden muchas veces observar el núcleo.

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, Benjamín. Rubio Campal, Faustina, Crespo Gonzales, María Rosario (2015). Técnicas de análisis hematológico. 1º ed. España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, Betty (2014). Hematología en la Práctica. 2º Ed. Philadelphia USA : Amolca.
- Muñoz Zambrano María E.; Morón Cortijo, Cecilia G.(2005). Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre Francisco Javier, Moreno Campoy, Elvira Eva (2015). Manual para Técnico Superior de Laboratorio Clínico y Biomédico. 1º ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Henry John Bernard. (2007). El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. 1º ed. Madrid : Marbán Libros., S.L.
- Rodak Bernadette F. (2010). Hematología : Fundamentos y Aplicaciones Clínicas. 2º ed. Buenos Aires : Médica Panamericana.



Guía de laboratorio N° 3:

Las células sanguíneas: Linfocitos y monocitos

Sección :Docente:

Fecha :/...../202....

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 :

Reconoce la morfología de los linfocitos y monocitos.

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 abastionados 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 linfoide, 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.

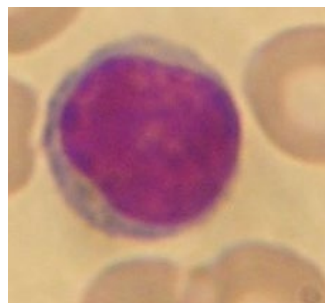
4.2 Con la ayuda del docente se identificará mediante la microscopía a cada una de las células sanguíneas.

5. Procedimientos

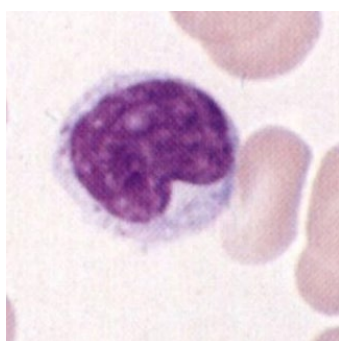
Primero : Reconocimiento de los linfocitos y monocitos

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 sí por su relación núcleo : citoplasma, más alta en los linfocitos pequeños.

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



Monocito : Es la célula mayor en la sangre normal. Tiene forma irregular, su diámetro varía entre 15 – 30 μm , 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 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, Benjamín. Rubio Campal, Faustina, Crespo Gonzales, María Rosario (2015). Técnicas de análisis hematológico. 1º ed. España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, Betty (2014). Hematología en la Práctica. 2º Ed. Philadelphia USA : Amolca.
- Muñoz Zambrano María E.; Morón Cortijo, Cecilia G.(2005). Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre Francisco Javier, Moreno Campoy, Elvira Eva (2015). Manual para Técnico Superior de Laboratorio Clínico y Biomédico. 1º ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Henry John Bernard. (2007). El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. 1º ed. Madrid : Marbán Libros., S.L.
- Rodak Bernadette F. (2010). Hematología : Fundamentos y Aplicaciones Clínicas. 2º ed. Buenos Aires : Médica Panamericana.



Guía de laboratorio N° 4:

Toma de muestra, frotis sanguíneo y coloración

Sección :Docente:

Fecha :/...../202....

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 :

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	Papel toalla		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:

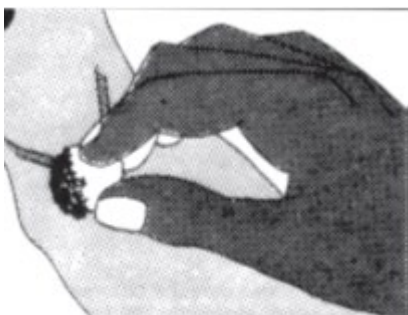
- 4.1 Se realizará una estricta observación de las medidas de bioseguridad durante la toma de muestra.
- 4.2 También se tendrá en cuenta durante los procedimientos de laboratorio las medidas de bioseguridad y trabajaremos con medidas de protección, tales como guardapolvos, guantes, etc.

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.



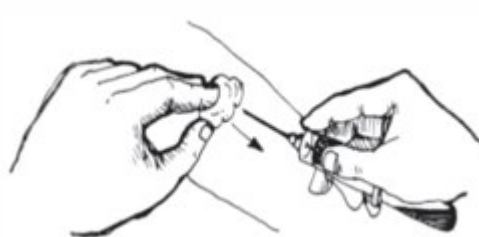
8. Aplicar el torniquete 5 a 10 cm. Por encima del sitio de punción, durante no más de 1 minuto.



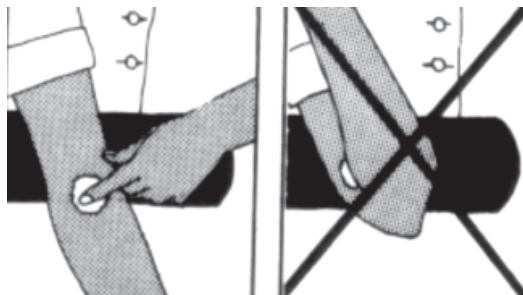
9. Realizar la venopunción, fijando la vena 2.5 a 5 cm por debajo del sitio e insertar la aguja con el bisel hacia arriba, con un ángulo de 15° entre la aguja y la piel, soltando el torniquete inmediatamente y pidiéndole al paciente a que abra su puño, colocando los tubos en el orden correcto.



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.

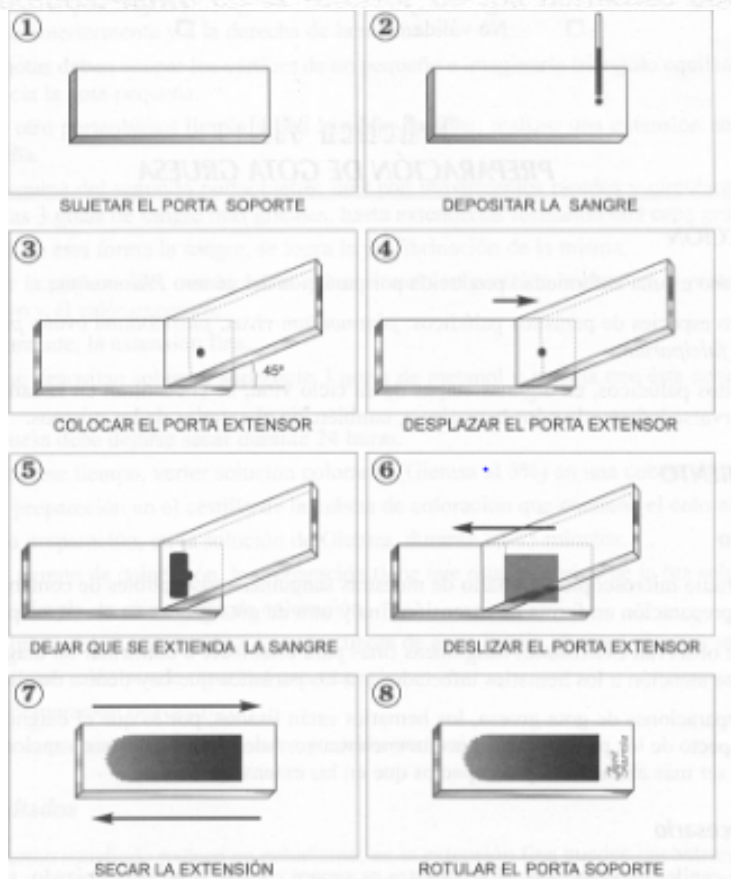


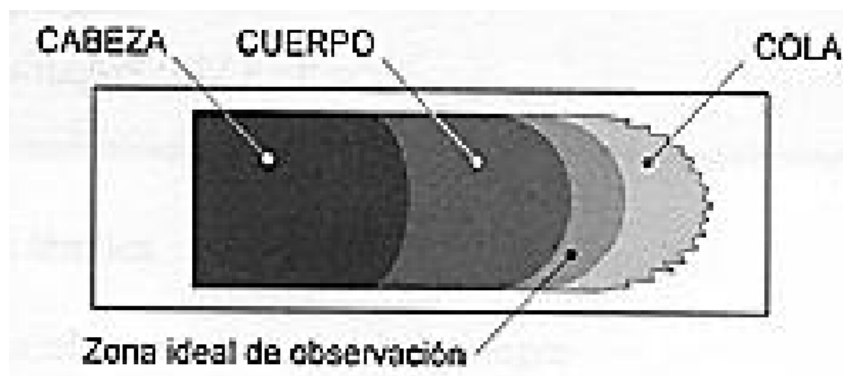
12. Descartar los elementos punzocortantes en el recipiente respectivo y los residuos peligrosos.
13. Rotular los tubos con los datos correctos en presencia del paciente, para evitar errores.

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.



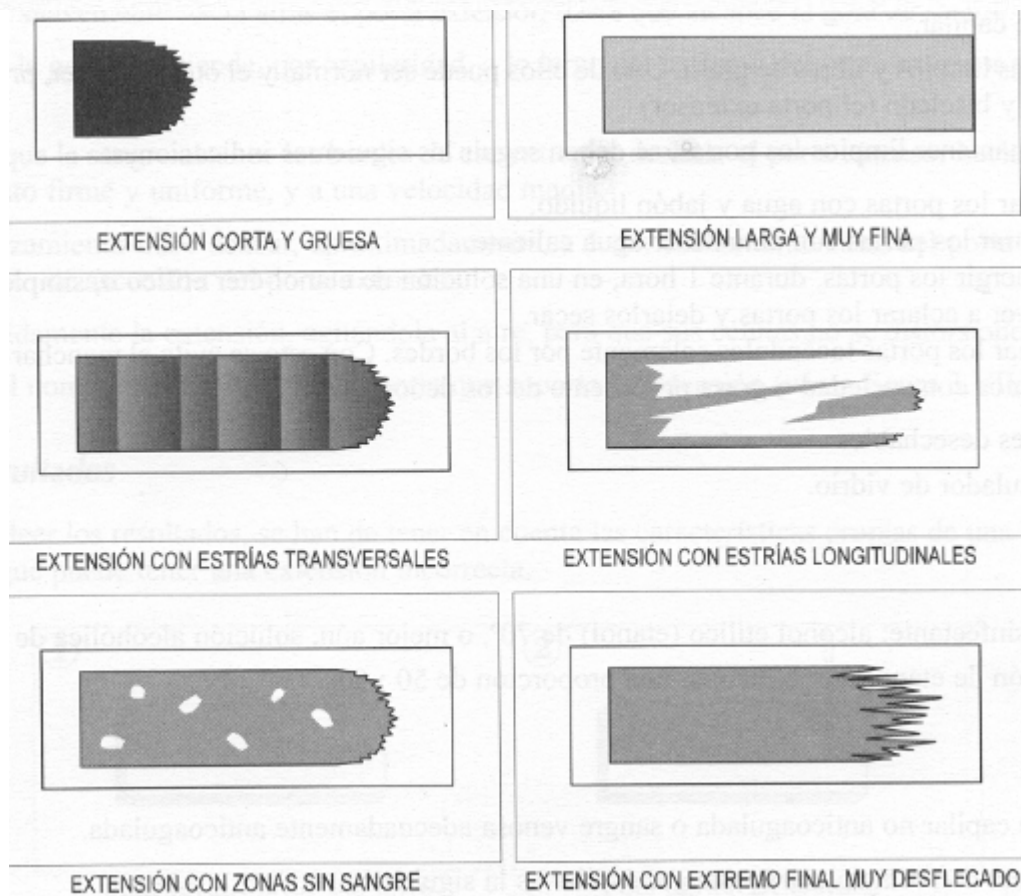


CARACTERÍSTICAS DE UNA BUENA EXTENSION:

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



Tercero : COLORACION DEL FROTIS SANGUINEO

Se usan los derivados de los colorantes de Romanowsky, que están constituidos por diferentes mezclas de colorantes básicos, las tiazinas (o azul de metileno y sus derivados) y colorantes ácidos las eosinas. Debemos de recordar que las estructuras celulares básicas se dejan colorear por los colorantes ácidos (eosina-color naranja). También que estructuras celulares que se dejan colorear por el azul adquieren color rojo-púrpura y se llaman 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 formula leucocitaria
2. Estudio morfológico de los leucocitos
3. Estudio morfológico de los eritrocitos.
4. Estudio morfológico de los 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 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, Benjamín. Rubio Campal, Faustina, Crespo Gonzales, María Rosario (2015). Técnicas de análisis hematológico. 1º ed. España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, Betty (2014). Hematología en la Práctica. 2º Ed. Philadelphia USA : Amolca.
- Muñoz Zambrano María E.; Morón Cortijo, Cecilia G.(2005). Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre Francisco Javier, Moreno Campoy, Elvira Eva (2015). Manual para Técnico Superior de Laboratorio Clínico y Biomédico. 1º ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Henry John Bernard. (2007). El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. 1º ed. Madrid : Marbán Libros., S.L.
- Rodak Bernadette F. (2010). Hematología : Fundamentos y Aplicaciones Clínicas. 2º ed. Buenos Aires : Médica Panamericana.



Guía de laboratorio N° 5:

Recuento de leucocitos, hematíes y plaquetas

Sección :Docente:

Fecha :/...../202....

Duración: 180 minutos

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

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:

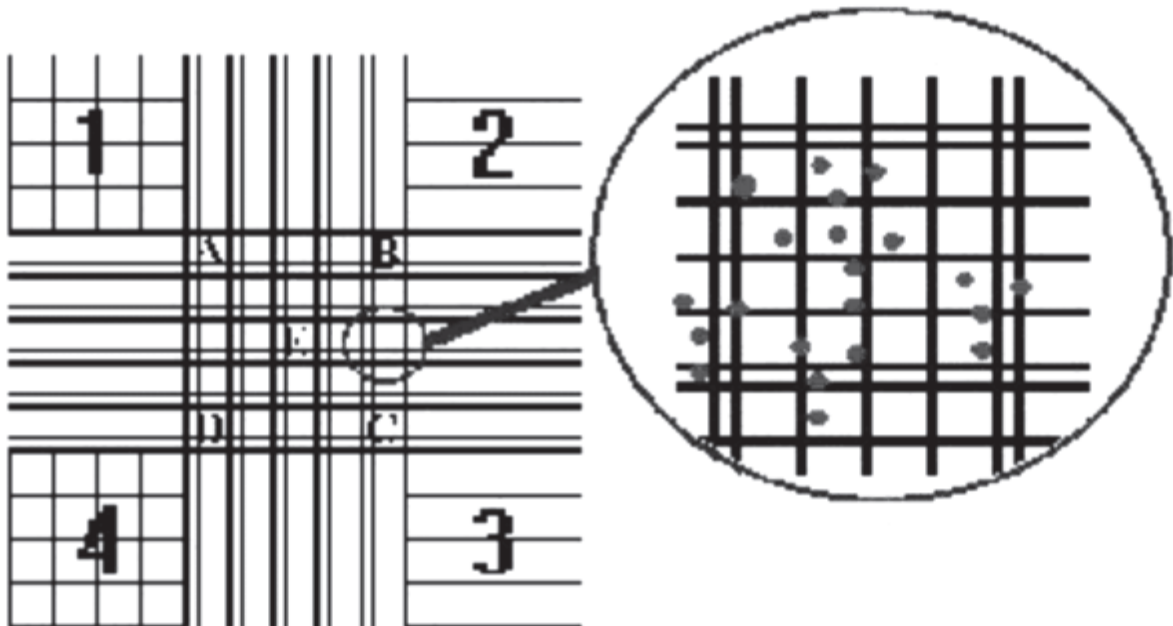
4.1 Se realizará una estricta observación de las medidas de bioseguridad durante el procesamiento de las muestras.

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

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

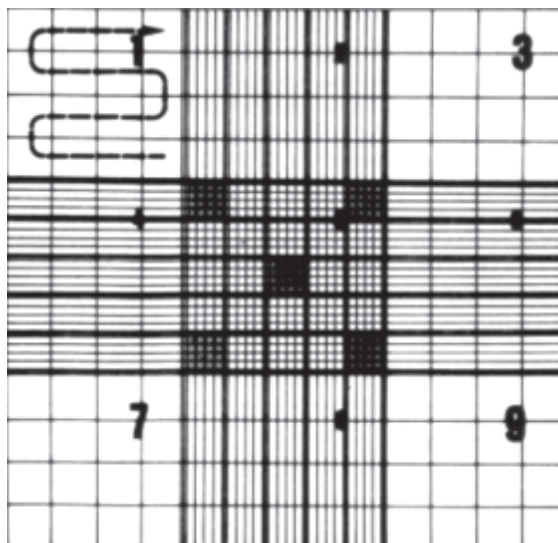
$$= \frac{\text{hematíes contados en 5 cuadrados pequeños}}{1/10\,000}$$

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

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, Benjamín. Rubio Campal, Faustina, Crespo Gonzales, María Rosario (2015). Técnicas de análisis hematológico. 1º ed. España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, Betty (2014). Hematología en la Práctica. 2º Ed. Philadelphia USA : Amolca.
- Muñoz Zambrano María E.; Morón Cortijo, Cecilia G.(2005). Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre Francisco Javier, Moreno Campoy, Elvira Eva (2015). Manual para Técnico Superior de Laboratorio Clínico y Biomédico. 1º ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Henry John Bernard. (2007). El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. 1º ed. Madrid : Marbán Libros., S.L.
- Rodak Bernadette F. (2010). Hematología : Fundamentos y Aplicaciones Clínicas. 2º ed. Buenos Aires : Médica Panamericana.



Guía de laboratorio N° 6:

Hemoglobina y hematocrito

Sección :Docente:

Fecha :/...../202....

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 ferrocianato, con formación de metahemoglobina, que se combina con el cianato de potasio para producir cianometahemoglobina (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.

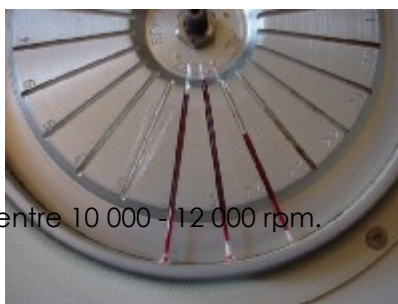
5. Procedimientos

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.

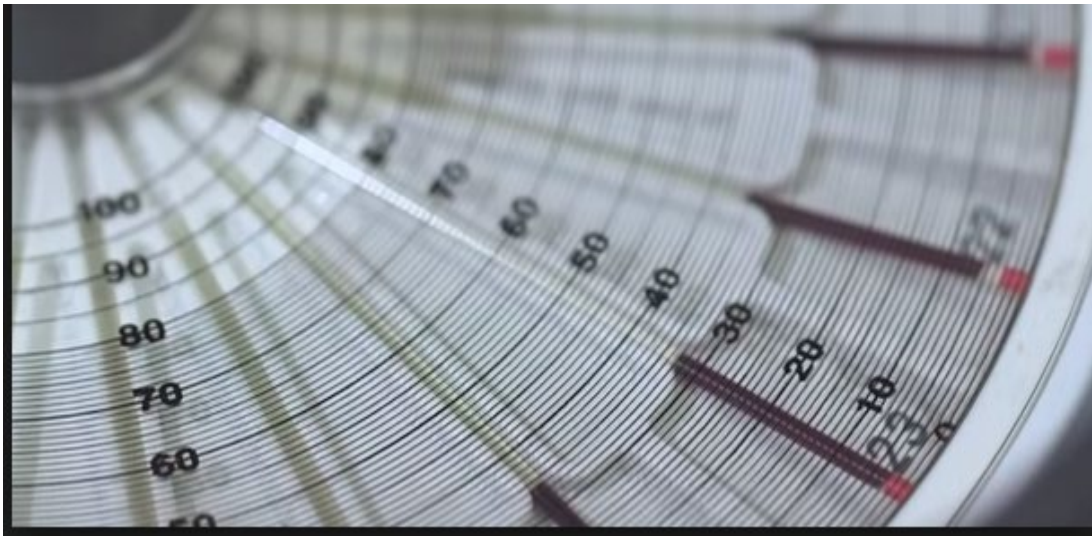
Resultados (lectura)

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:

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





VALORES DE REFERENCIA

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

6. Resultados

1. El estudiante estará en la capacidad de realizar el dosaje de hemoglobina.
2. 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, Benjamín. Rubio Campal, Faustina, Crespo Gonzales, María Rosario (2015). Técnicas de análisis hematológico. 1ª ed. España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, Betty (2014). Hematología en la Práctica. 2ª Ed. Philadelphia USA : Amolca.
- Muñoz Zambrano María E.; Morón Cortijo, Cecilia G.(2005). Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre Francisco Javier, Moreno Campoy, Elvira Eva (2015). Manual para Técnico Superior de Laboratorio Clínico y Biomédico. 1º ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Henry John Bernard. (2007). El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. 1º ed. Madrid : Marbán Libros., S.L.
- Rodak Bernadette F. (2010). Hematología : Fundamentos y Aplicaciones Clínicas. 2ª ed. Buenos Aires : Médica Panamericana.



Guía de laboratorio N° 7:

Indices corpusculares y velocidad de sedimentación globular

Sección :Docente:

Fecha :/...../202....

Duración: 180 minutos

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

1. Propósito /Objetivo :

Realiza el dosaje de hemoglobina y hematocrito
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 las 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 hematología	3 ó 5 diferenciales	1 unid.

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Jeringas con agujas largas y bombillas de jebes		6 unid.
2	Tubos de westergreen o wintrobe	vidrio	12 unid.
3	Soportes para westergreen o wintrobe	metálico	6 unid.

3.4. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Material de toma de muestra		

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

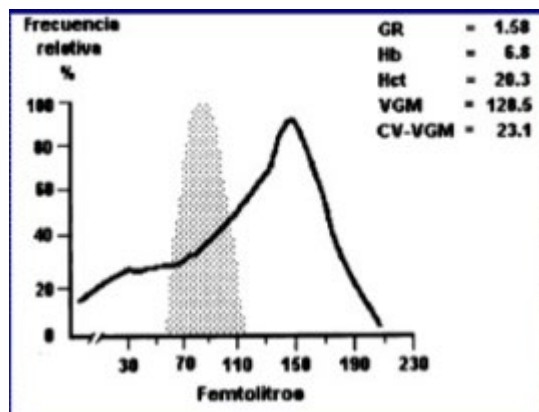
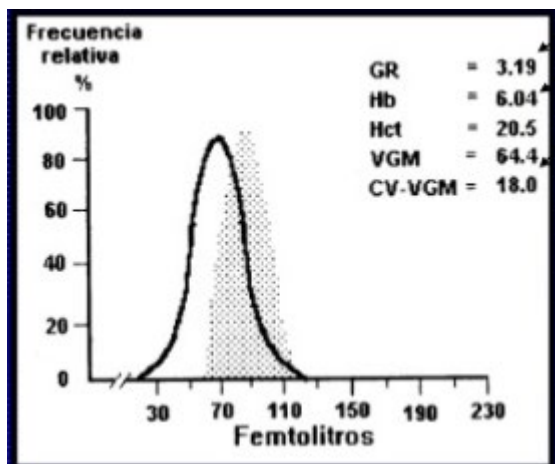
VARONES 0 – 4 mm/hora
 MUJERES 0 – 10 mm/hora

Segundo : INDICES ERITROCITARIOS

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

- 3. El estudiante estará en la capacidad de realizar el dosaje de hemoglobina.
- 4. Podrá realizar e interpretar los resultados del hematocrito.
- 5. El estudiante estará en la capacidad de realizar la velocidad de sedimentación globular.
- 6. Podrá calcular e interpretar los resultados de los índices eritrocitarios

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.
- 7.3 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.
- 7.4 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, Benjamín. Rubio Campal, Faustina, Crespo Gonzales, María Rosario (2015). Técnicas de análisis hematológico. 1º ed. España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, Betty (2014). Hematología en la Práctica. 2º Ed. Philadelphia USA : Amolca.
- Muñoz Zambrano María E.; Morón Cortijo, Cecilia G.(2005). Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre Francisco Javier, Moreno Campoy, Elvira Eva (2015). Manual para Técnico Superior de Laboratorio Clínico y Biomédico. 1º ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Henry John Bernard. (2007). El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. 1º ed. Madrid : Marbán Libros., S.L.
- Rodak Bernadette F. (2010). Hematología : Fundamentos y Aplicaciones Clínicas. 2º ed. Buenos Aires : Médica Panamericana.



Guía de laboratorio N° 9:

Los reticulocitos

Sección :Docente:

Fecha :/...../202....

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 cromatínica 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

3.1 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.

3.3. Reactivos

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

4. Indicaciones/instrucciones:

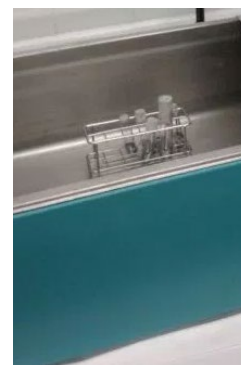
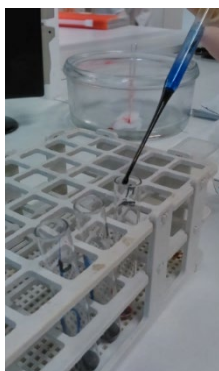
4.1 Se realizará una estricta observación de las medidas de bioseguridad durante el procesamiento de las muestras.

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

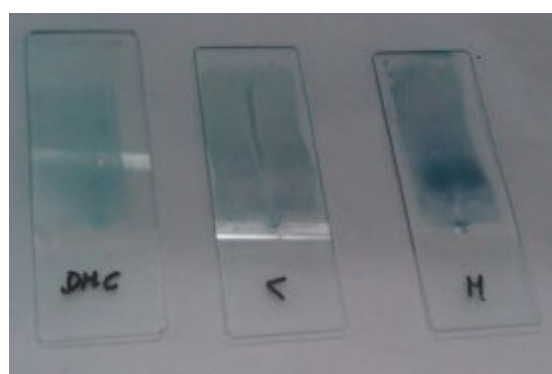
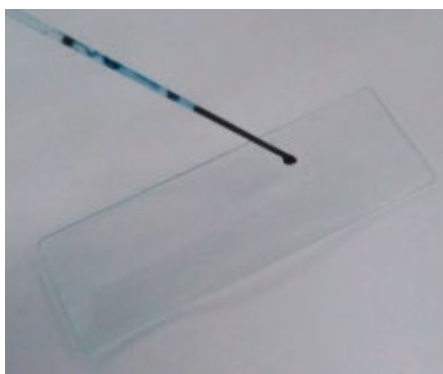
5. Procedimientos

Primero : RECuento DE RETICULOCITOS

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

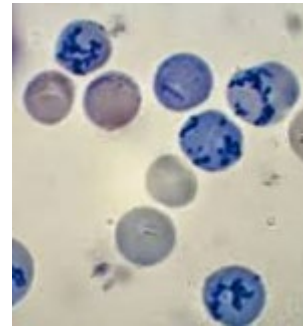
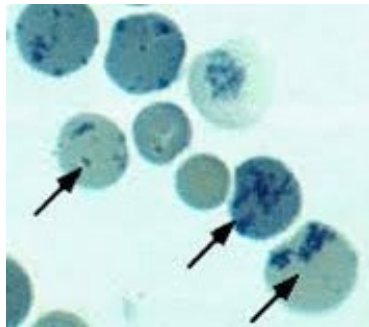


8. Incubar en el baño maría por 15 minutos (depende de la madurez del colorante, si se ha preparado recientemente se coloca por más tiempo).
9. Retirar el tubo del baño maría y con la ayuda de las pipetas pasteur o de transferencia colocar una gota muy pequeña en una lámina desengrasada. Con un extensor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



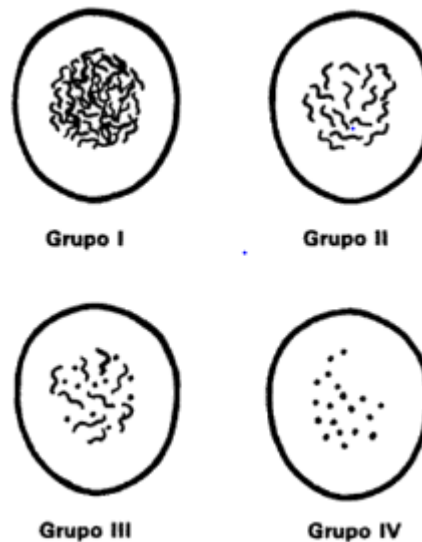


10. Observar en el microscopio con aceite de inmersión, de preferencia en los campos en donde se puedan observar a los glóbulos rojos sueltos (aproximadamente de 100 GR por campo)



11. 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.

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

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 %

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, Benjamín. Rubio Campal, Faustina, Crespo Gonzales, María Rosario (2015). Técnicas de análisis hematológico. 1º ed. España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, Betty (2014). Hematología en la Práctica. 2º Ed. Philadelphia USA : Amolca.
- Muñoz Zambrano María E.; Morón Cortijo, Cecilia G.(2005). Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre Francisco Javier, Moreno Campoy, Elvira Eva (2015). Manual para Técnico Superior de Laboratorio Clínico y Biomédico. 1º ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Henry John Bernard. (2007). El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. 1º ed. Madrid : Marbán Libros., S.L.
- Rodak Bernadette F. (2010). Hematología : Fundamentos y Aplicaciones Clínicas. 2º ed. Buenos Aires : Médica Panamericana.



Guía de laboratorio N° 10:

Evaluación de los alteraciones eritrocitarias : forma e inclusiones

Sección :Docente:

Fecha :/...../202....

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 :

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

3.1. 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.

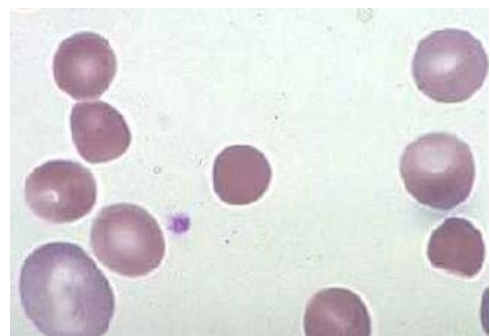
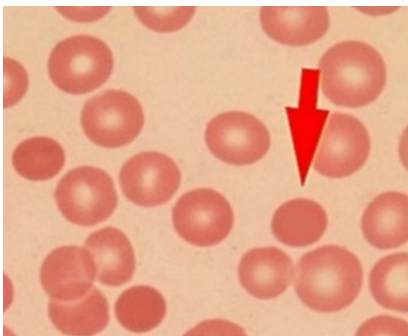
5. Procedimientos

Primero : Alteraciones de forma

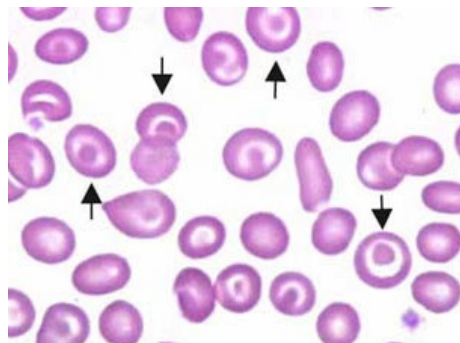
Llamadas también poiquilocitosis. Entre éstos tenemos:

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

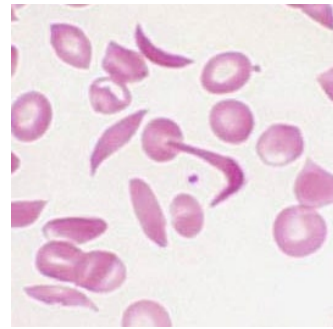
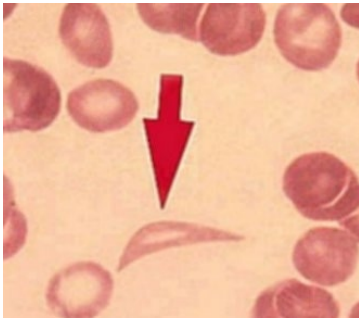
Su vida media es de 14 días, producen taponamiento de los vasos sanguíneos. Se encuentran en la enfermedad esferocitosis hereditaria o enfermedad de Minkowski-Chauffard (defecto congénito de la membrana eritrocitaria). También pueden ser adquiridos por factores extraeritrocitarios.



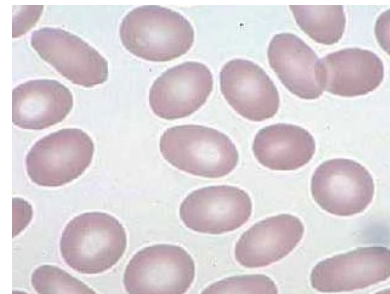
Codocitos : Llamados también dianocitos. En la región central presentan un área con mayor contenido hemoglobínico (zona densa). La interfase entre la membrana celular y el centro es transparente. Se encuentran en hemoglobinopatías, talacemias, anemia ferropénica y en algunas hepatopatías crónicas con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



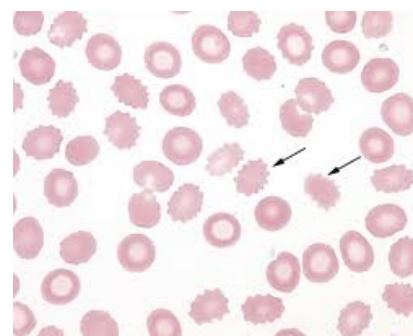
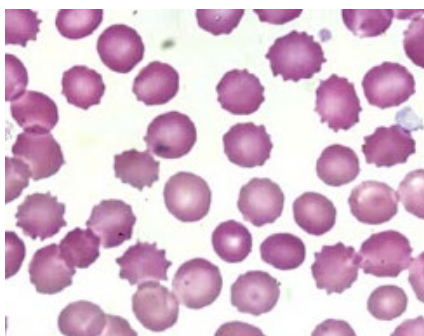
Drepanocitos : Son hematíes cuya membrana hemática se altera y se hace falciforme (forma de hoz o media luna). Su apariencia es propia del estado homocigoto de la hemoglobina S. Su enfermedad se conoce como drepanocitosis hereditaria.



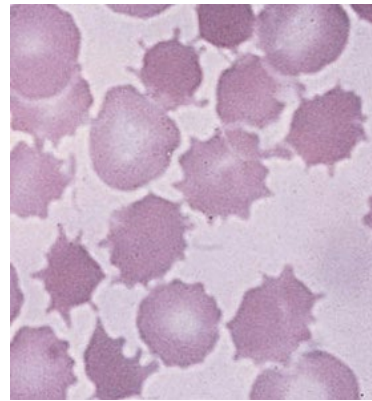
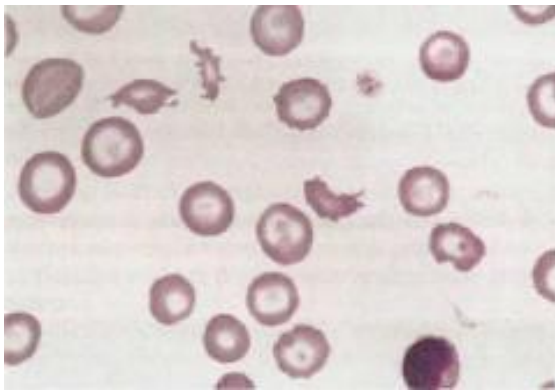
Elíptico : Los hematíes son alargados (ovalocitos). Se encuentran en la enfermedad llamada ovalocitosis hereditaria. Su presencia se debe a una alteración congénita de la membrana del hematíe, aunque puede ser adquirida en caso de una anemia megaloblástica, ferropénica o arregenerativa.



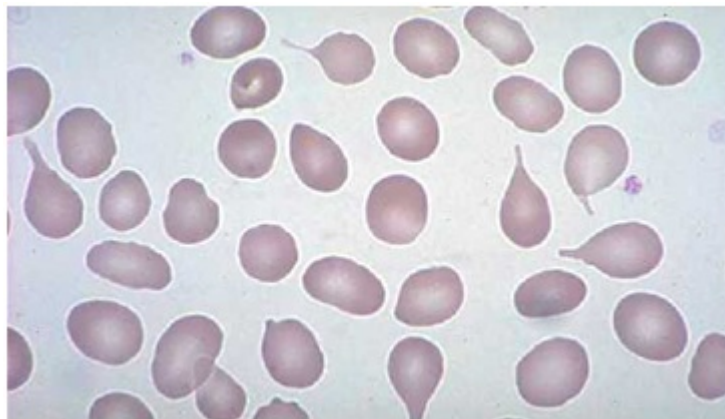
Equinocitos : Las prominencias de la membrana eritrocitaria son distribuidas regularmente a lo largo de toda su superficie. Aparecen por ejemplo en uremia, cuando los hematíes son pobres en potasio y en las hepatopatías neonatales, o pueden ser artefactos.



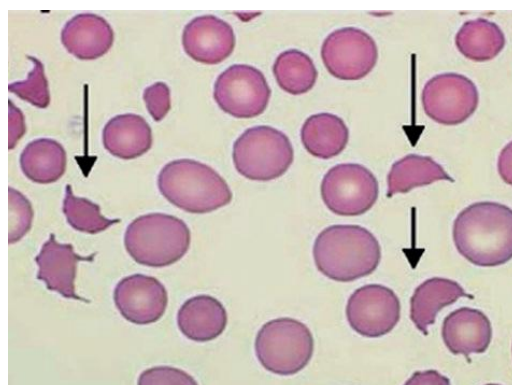
Acantocitos : Las prominencias de la membrana eritrocitaria son distribuidas irregularmente y de diferente longitud. Aparecen por ejemplo en cirrosis hepática.



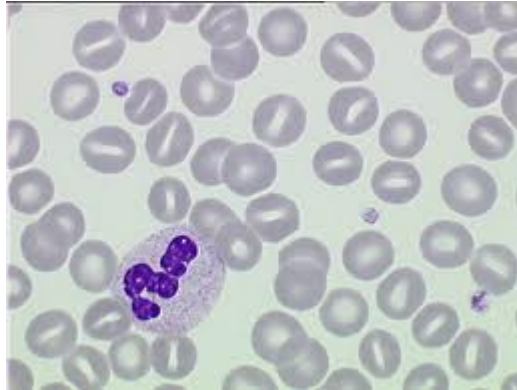
Dacriocitos : Son hematíes en forma de lágrima. Se encuentran en la anemia ferropénica, anemia megaloblástica y talasemia.



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.

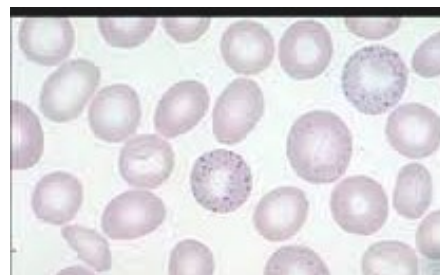
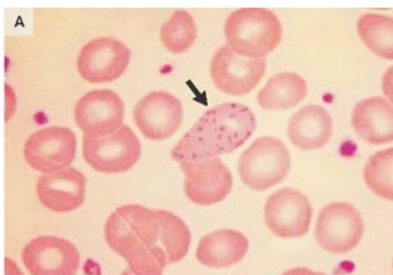


Estomatocitos : Son hematíes que en lugar de una depleción central clara tienen una banda pálida central que les da un aspecto de boca. Se hereda como carácter autosómico dominante. Esta enfermedad es causada por anomalía hereditaria de la membrana eritrocitaria.

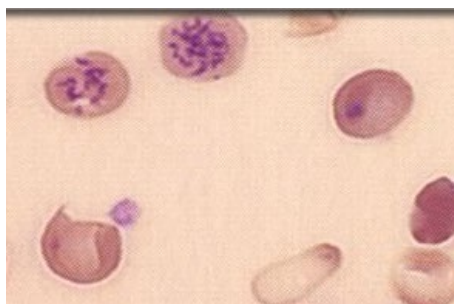


Segundo : INCLUSIONES ERITROCITARIAS

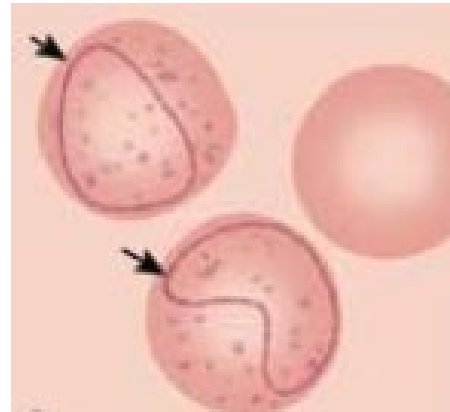
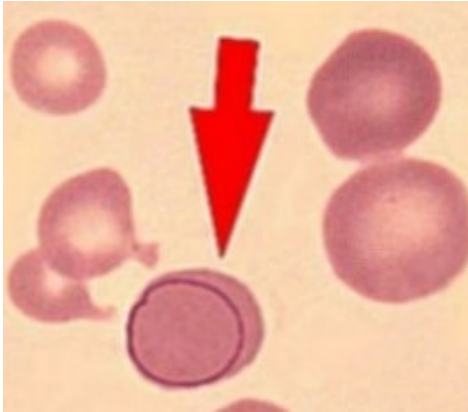
Punteado basófilo : Son gránulos basófilos presentes en el citoplasma de los hematíes. Puede tratarse de un reticulocito por su elevado contenido de ARN. Se encuentra en una intoxicación por plomo llamada saturnismo.



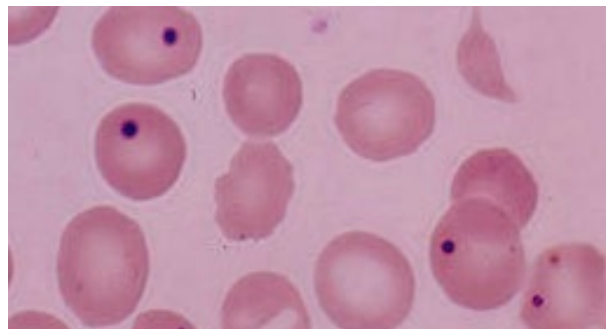
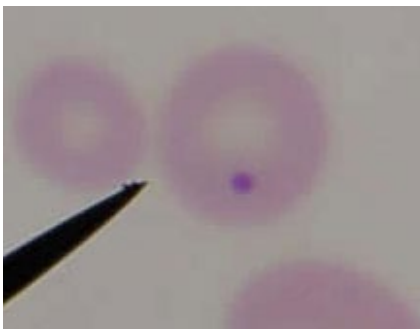
Cuerpos de Heinz : Son formaciones redondeadas de hasta 3µ de diámetro localizadas habitualmente en la periferia de la célula. Se observan con colorantes para reticulocitos. Estos cuerpos son abundantes en sujetos esplenectomizados.



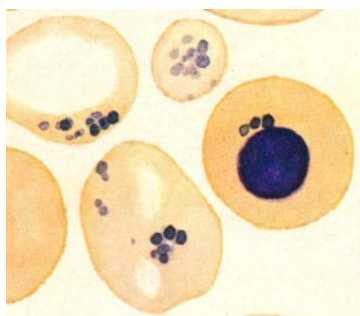
Anillos de Cabot : Se cree que sean restos de membrana nuclear eritroblástica o restos después de una mitosis anormal. Se observan en forma de anillo u ocho invertido. Pueden ser precipitados de ARN o proteína carente de importancia diagnóstica.



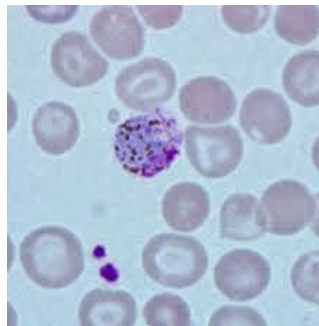
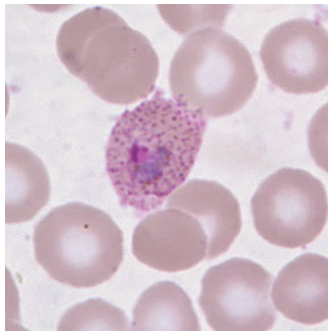
Cuerpos de Howell-Jolly : Son restos de cromatina nuclear, resultados de la pérdida del núcleo por parte del normoblasto ortocromático hasta la conversión del hematíe. Se les considera signos de regeneración celular. Se observan en pacientes esplenectomizados.



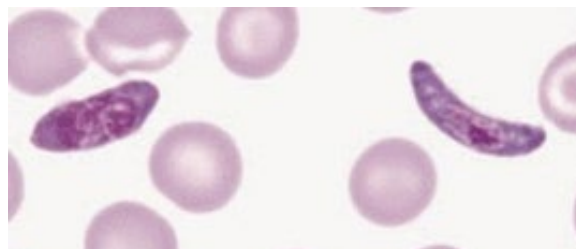
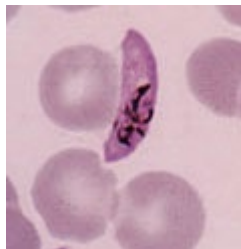
Siderocitos : Son hematíes con contenido de hierro libre no hemoglobínico de color verde azulado.



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



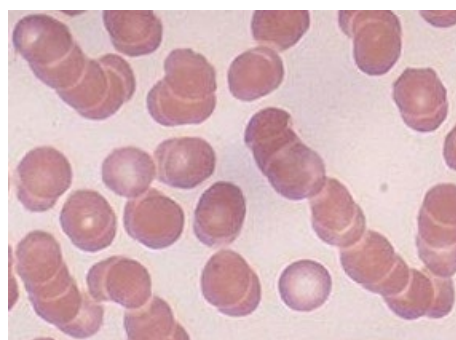
Gránulos de Maurer: Son gránulos de color violeta oscuro que se encuentran en pacientes con parasitismo por *Plasmodium falciparum*.



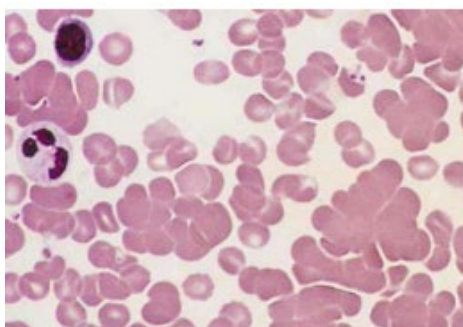
OTROS

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, Benjamín. Rubio Campal, Faustina, Crespo Gonzales, María Rosario (2015). Técnicas de análisis hematológico. 1ª ed. España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, Betty (2014). Hematología en la Práctica. 2ª Ed. Philadelphia USA : Amolca.
- Muñoz Zambrano María E.; Morón Cortijo, Cecilia G.(2005). Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre Francisco Javier, Moreno Campoy, Elvira Eva (2015). Manual para Técnico Superior de Laboratorio Clínico y Biomédico. 1º ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Henry John Bernard. (2007). El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. 1º ed. Madrid : Marbán Libros., S.L.
- Rodak Bernadette F. (2010). Hematología : Fundamentos y Aplicaciones Clínicas. 2ª ed. Buenos Aires : Médica Panamericana.



Guía de laboratorio N° 11:

Evaluación morfológica de las anemias

Sección :Docente:

Fecha :/...../202....

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.
Conoce e identifica las alteraciones en las anemias hemolíticas.

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.

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

3.2. 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		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.

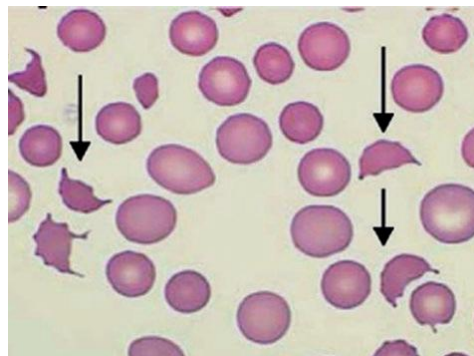
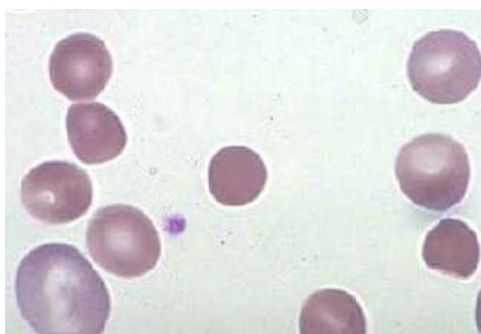
5. Procedimientos

Primero :

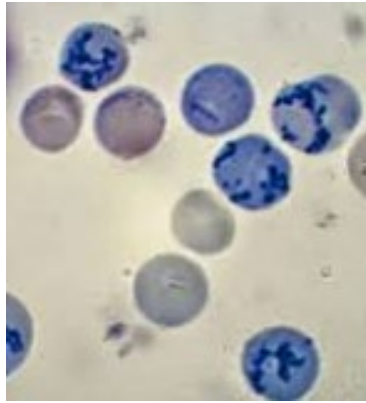
1. Observaremos los histogramas de pacientes anémicos, y los clasificaremos de acuerdo a las constantes corpusculares:
VCM, CHCM, RDW, Hb, Hto, RBC.
2. Los clasificaremos morfológicamente de acuerdo a las constantes corpusculares.
3. Realizaremos los estudios de reticulocitos de los pacientes para poder 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 macrocíticas, se les realizará un estudio de vitamina B12 y/o ácido fólico.
6. También se realizará un estudio citomorfológicos de los eritrocitos, para poder observar las alteraciones de los glóbulos rojos y sus inclusiones más frecuentes y que nos ayuden a diferenciar las anemias en estudio.
7. Realizaremos las exposiciones de los casos estudiados.

Segundo : ANEMIAS HEMOLITICAS

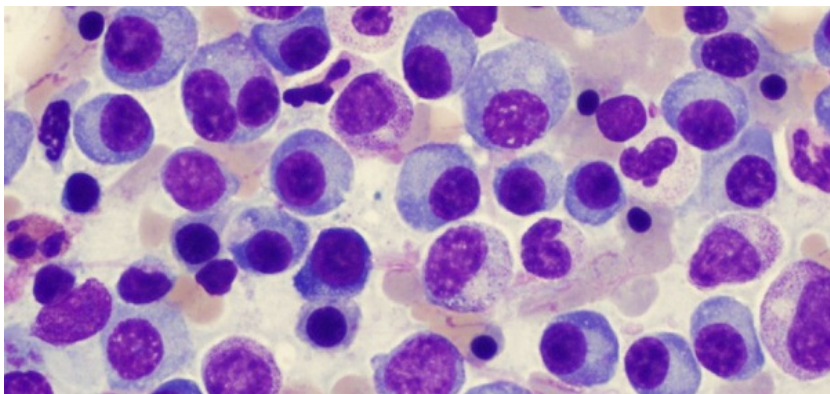
8. Observaremos los histogramas de pacientes anémicos, y los clasificaremos de acuerdo a las constantes corpusculares:
VCM, CHCM, RDW, Hb, Hto, RBC.
Generalmente observaremos normocitosis y normocromía, a diferencia de la esferocitosis hereditaria que podríamos ver VCM bajo y CHCM alta.
9. Observaremos la morfología eritrocitaria



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

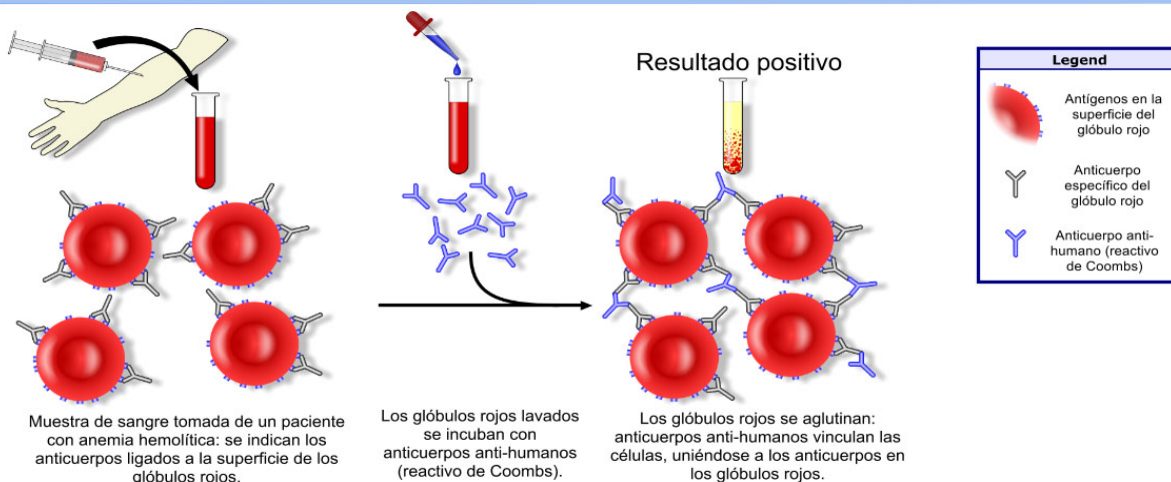


11. Si observamos la presencia de hematíes nucleados sería muy importante realizar su recuento, llegando incluso si existe un porcentaje considerable a realizar el cálculo de leucocitos verdaderos.



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

Prueba de Coombs directa



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

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.
- 7.3 Se tiene que realizar una serie de estudios para diferenciar la anemia hemolítica.

8. Sugerencias y /o recomendaciones

.....

.....

.....

.....

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- García Espinoza, Benjamín. Rubio Campal, Faustina, Crespo Gonzales, María Rosario (2015). Técnicas de análisis hematológico. 1º ed. España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, Betty (2014). Hematología en la Práctica. 2º Ed. Philadelphia USA : Amolca.
- Muñoz Zambrano María E.; Morón Cortijo, Cecilia G.(2005). Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre Francisco Javier, Moreno Campoy, Elvira Eva (2015). Manual para Técnico Superior de Laboratorio Clínico y Biomédico. 1º ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Henry John Bernard. (2007). El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. 1º ed. Madrid : Marbán Libros., S.L.
- Rodak Bernadette F. (2010). Hematología : Fundamentos y Aplicaciones Clínicas. 2º ed. Buenos Aires : Médica Panamericana.



Guía de laboratorio N° 12:

El laboratorio en el diagnóstico de las anemias

Sección :Docente:

Fecha :/...../202.... 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 :

Aplicar los conocimientos aprendidos en el diagnóstico de las anemias.

2. Fundamento Teórico

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

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 lectura y descripción de los casos clínicos.

4.2 Desarrollaremos en forma ordenada, hasta poder concluir en una o mas ítems.

5. Procedimientos:

Primero : Resuelva los siguientes casos

- a. Un paciente varón, acude a la emergencia con palidez, decaimiento, fatiga, al solicitarle sus análisis hematológicos le dieron los siguientes resultados:
 Hb : 3.5 gr% Hto : 12% RGR : 2 300 000 pmmc
 Reticulocitos : 59 en 10 campos



- 1.1. Calcule las constantes corpusculares:
 VCM =
 HCM =
 CHCM =
- 1.2. Cuál es la clasificación morfológica de la anemia?.....

- 1.3. Calcule el IPM.....
- 1.4. Cuál es la clasificación fisiopatológica de la anemia?.....
- 1.5. Cual podría ser la causa de la anemia?.....

- 1.6. Mencione las principales causas de hipocromía y microcitosis

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

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

Su hemograma es como sigue:

Leucocitos	14,800 x mm ³	Glóbulos Rojos	2'220.000 x mm ³
Neutrófilos	9,780 x mm ³	Hemoglobina	6.75 g / dL
Linfocitos	2,840 x mm ³	Hematocrito	20.6 %
Basófilos	400 x mm ³	Reticulocitos	17 %
Monocitos	1,710 x mm ³	RDW	22.1
Eosinófilos	126 x mm ³		
Plaquetas	362,000 x mm ³	VMP	6.11 fL

En el frotis se observan

Macroцитos	10 %	Policromatofilia	2.5 %
Normoblastos	5 %.	Células falciformes	2 %

- 1.1. Calcule las constantes corpusculares:
 VCM =
 HCM =
 CHCM =
- 1.2. Cuál es la clasificación morfológica de la anemia?.....

- 1.3. Calcule el IPM.....
- 1.4. Cuál es la clasificación fisiopatológica de la anemia?.....
- 1.5. Cual podría ser la causa de la anemia?.....

- 1.6. ¿Cómo está la eritropoyesis de la paciente?

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



Su hemograma es como sigue

Leucocitos	6,320 x mm ³	Neutrófilos	3,630 x mm ³
Linfocitos	2,050 x mm ³	Monocitos	356 x mm ³
Eosinófilos	190 x mm ³	Basófilos	95 x mm ³
Glóbulos Rojos	2'640,000 x mm ³	Hemoglobina	8.26
Hematocrito	21.6	VMC	81.7
HMC	31.4	CHMC	38.4
RDW	20.3	Plaquetas	229,000 x mm ³
VMP	5.74 fL	Reticulocitos	37 %
Macroцитosis	15 %	Esferocitos	16 %

- 1.1. Cuál es la clasificación morfológica de la anemia?.....
- 1.2. Calcule el IPM.....
- 1.3. Cuál es la clasificación fisiopatológica de la anemia?.....
- 1.4. Cual podría ser la causa de la anemia?.....

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

Su hemograma es como sigue:

Leucocitos	6,000 x mm ³	Neutrófilos	3,480 x mm ³
Linfocitos	1,860 x mm ³	Monocitos	360 x mm ³
Eosinófilos	300 x mm ³	Basófilos	0 x mm ³
Glóbulos Rojos	3'410,000 x mm ³	Hemoglobina	6.8 g/dL
Hematocrito	21.8 %	VMC	64
HMC	19.8	CHMC	31
RDW	12.4	Plaquetas	529,000 x mm ³
VMP	8 fL	Reticulocitos	1 %
Macroцитosis	4 %	Esferocitos	0 %
Microцитosis	35 %	Hipocromia	25 %

- 1.1. Cuál es la clasificación morfológica de la anemia?.....
- 1.2. Calcule el IPM.....
- 1.3. Cuál es la clasificación fisiopatológica de la anemia?.....
- 1.4. Cual podría ser la causa de la anemia?.....

1.5. Como confirmaríamos el diagnóstico?.....

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

Su hemograma es como sigue

Leucocitos	17,600 x mm ³	Neutrófilos	14,300 x mm ³
Linfocitos	1,740 x mm ³	Monocitos	1,380 x mm ³
Eosinófilos	16 x mm ³	Basófilos	312 x mm ³



Glóbulos Rojos	1'840,000 x mm ³	Hemoglobina	6.6 g/dL
Hematocrito	18.8 %	VMC	102 fL
HMC	35.8 pg	CHMC	35 g / dL
RDW	21.5	Plaquetas	12,500 x mm ³
VMP	12 fL	Reticulocitos	16 %
Macrocitosis	10 %	Esferocitos	02 %
Policromatofilia	10 %	Esquistocitos	12 %

- 1.1. Cuál es la clasificación morfológica de la anemia?.....
-
- 1.2. Calcule el IPM.....
- 1.3. Cuál es la clasificación fisiopatológica de la anemia?.....
- 1.4. Cual podría ser la causa de la anemia?.....
-
- 1.5. Cuáles son las principales causas de esquistocitosis?.....
-

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

Leucocitos	2,780 x mm ³	Neutrófilos	765 x mm ³
Linfocitos	1,731 x mm ³	Monocitos	235 x mm ³
Eosinófilos	11 x mm ³	Basófilos	35 x mm ³
Glóbulos Rojos	x mm ³	Hemoglobina	3.56 g/dL
Hematocrito	12.4 %	VMC	102 fL
HMC	29.3 pg	CHMC	28.7 g / dL
RDW	18 %	Normoblastos	3 %
Reticulocitos	2.5 %	Plaquetas	70,000 x mm ³
VMP	fL	VSG	mm /Hra.
Coombs directo	Negativo	Ferritina Sérica	91 ng / mL
Vitamina B12	528 (VN 160 a 970)		
Acido Fólico	23.7 ng/ml (VN 3-15)		
Esquistocitos	6 %		
Medula Osea	Hipoplasia 10 %		

Megacariocitos 1 por cada 2 a 3 espículas.

- 1.1. Cuál es la clasificación morfológica de la anemia?.....
-
- 1.2. Calcule el IPM.....
- 1.3. Cuál es la clasificación fisiopatológica de la anemia?.....
- 1.4. Cual podría ser la causa de la anemia?.....
-
- 1.5. Cuáles son los criterios diagnósticos del síndrome de Hellp?.....
-



IPM PARA NIÑOS HASTA LOS 8 AÑOS Y LACTANTES

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

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

6. Resultados

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

7. Conclusiones

8. Sugerencias y /o recomendaciones

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

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- García Espinoza, Benjamín. Rubio Campal, Faustina, Crespo Gonzales, María Rosario (2015). Técnicas de análisis hematológico. 1ª ed. España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, Betty (2014). Hematología en la Práctica. 2ª Ed. Philadelphia USA : Amolca.
- Muñoz Zambrano María E.; Morón Cortijo, Cecilia G.(2005). Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre Francisco Javier, Moreno Campoy, Elvira Eva (2015). Manual para Técnico Superior de Laboratorio Clínico y Biomédico. 1º ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Henry John Bernard. (2007). El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. 1º ed. Madrid : Marbán Libros., S.L.
- Rodak Bernadette F. (2010). Hematología : Fundamentos y Aplicaciones Clínicas. 2ª ed. Buenos Aires : Médica Panamericana.



Guía de laboratorio N° 13:

El laboratorio en la Hemostasia

Sección :Docente:

Fecha :/...../202....

Duración: 180 minutos

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

1. Propósito /Objetivo :

Realiza correctamente el tiempo de sangría y coagulación
Realiza correctamente el tiempo de protrombina
Realiza correctamente el tiempo de tromboplastina parcial activada

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.

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.

En la evaluación de la vía intrínseca se realiza mediante el tiempo de tromboplastina parcial activada, 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

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Equipo automatizado de hematología	3 ó 5 diferenciales	1 unid.
2	Microscopios	binoculares	6 unid.
3	Baño maria		1 unid.
4	coagulometro		1 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
7	Tubos de vidrio	Muy limpios	12 unid.
8	cronómetro		3 unid.
9	Tubos con citrato de sodio	4 ml	12 unid.
10	Agujas	21 x 1	6 unid.
11	algodón		50 gr
12	Cups para coagulómetro		12 unid.
13	Pipetas automáticas	50 – 100 ul	6 unid.
14	Tips azules		20 unid.
15	Tips amarillos		20 unid.
16	Adaptadores toma muestra		6 unid.
17	Tubos al vacío sin anticoagulante	4 ml o 6 ml	6 unid.
			51

3.3.Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Alcohol	70°	10 ml
2	Reactivos para tiempo de protrombina y tromboplastina parcial activada	Frascos	3 unidad

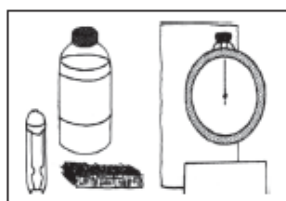
4. Indicaciones/instrucciones:

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

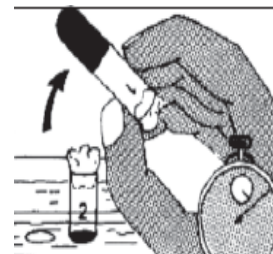
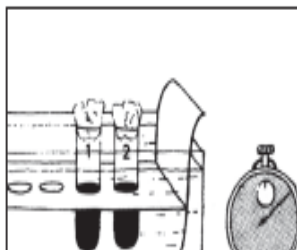
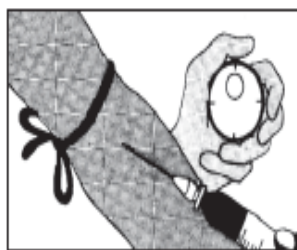
Si el tiempo de sangrado se prolonga examine una extensión de sangre teñida según el método de Romanowski para observar si las plaquetas son escasas.

Interpretación del resultado

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

Segundo: TIEMPO DE COAGULACION

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. Inclinar 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)

3. Examine el segundo tubo inmediatamente después que haya coagulado la sangre del primero, lo que por lo general es inmediato. Cronometrar. Se notifica como tiempo de coagulación la media de los dos tubos.
El tiempo normal de coagulación en tubo es de 5 a 15 minutos a 37 °C.

Interpretación

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

Tercero : TIEMPO DE PROTROMBINA

- Colocar el plasma (desconocido o control) en baño de agua a 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

Cuarto : 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

6. Resultados

1. El estudiante estará en la capacidad realizar correctamente el tiempo de sangría.
2. Analizará los parámetros de evaluación de la serie plaquetaria en el hemograma automatizado.
3. El estudiante estará en la capacidad realizar correctamente el tiempo de coagulación.
4. El estudiante estará en la capacidad de realizar correctamente el tiempo de protrombina y el tiempo de tromboplastina parcial activada
5. Podrá realizar la valoración de las vías extrínseca e intrínseca

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.
- 7.3 El tiempo de protrombina es muy importante para medir la vía extrínseca de la coagulación.
- 7.4. El tiempo de coagulación nos permite medir las alteraciones en la concentración del factor VII o XIII.
- 7.5. El tiempo de tromboplastina parcial activado nos evalúa la vía intrínseca y la vía común.

9. Sugerencias y /o recomendaciones

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



Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- García Espinoza, Benjamín. Rubio Campal, Faustina, Crespo Gonzales, María Rosario (2015). Técnicas de análisis hematológico. 1ª ed. España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, Betty (2014). Hematología en la Práctica. 2ª Ed. Philadelphia USA : Amolca.
- Muñoz Zambrano María E.; Morón Cortijo, Cecilia G.(2005). Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre Francisco Javier, Moreno Campoy, Elvira Eva (2015). Manual para Técnico Superior de Laboratorio Clínico y Biomédico. 1º ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Henry John Bernard. (2007). El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. 1º ed. Madrid : Marbán Libros., S.L.
- Rodak Bernadette F. (2010). Hematología : Fundamentos y Aplicaciones Clínicas. 2ª ed. Buenos Aires : Médica Panamericana.



Guía de laboratorio N° 14:

Hemograma automatizado

Sección :Docente:

Fecha :/...../202....

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

3.2. 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:

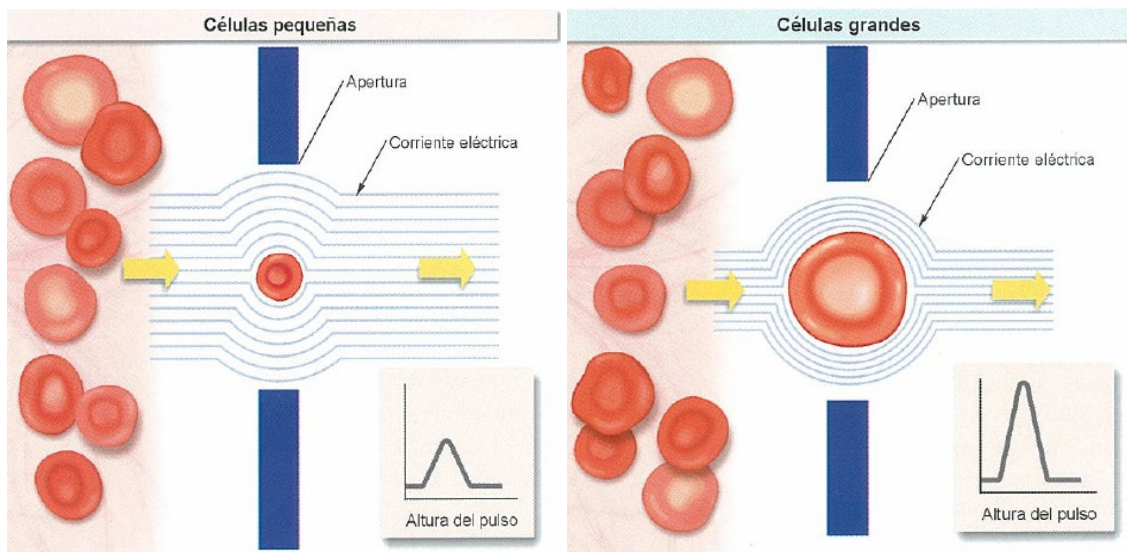
4.1 Se realizará una estricta observación de lasedidas de bioseguridad durante el procesamiento de las muestras.

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.

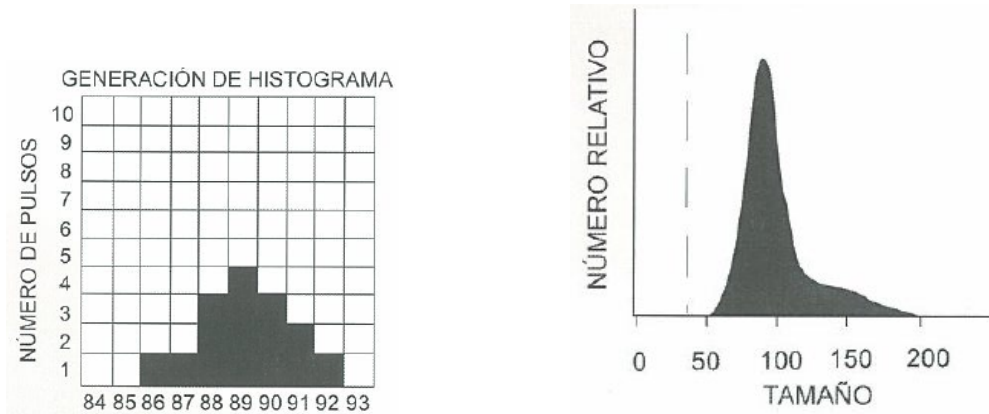


IMPEDANCIA ELECTRICA PARA EL RECUENTO DE HEMATIES Y PLAQUETAS

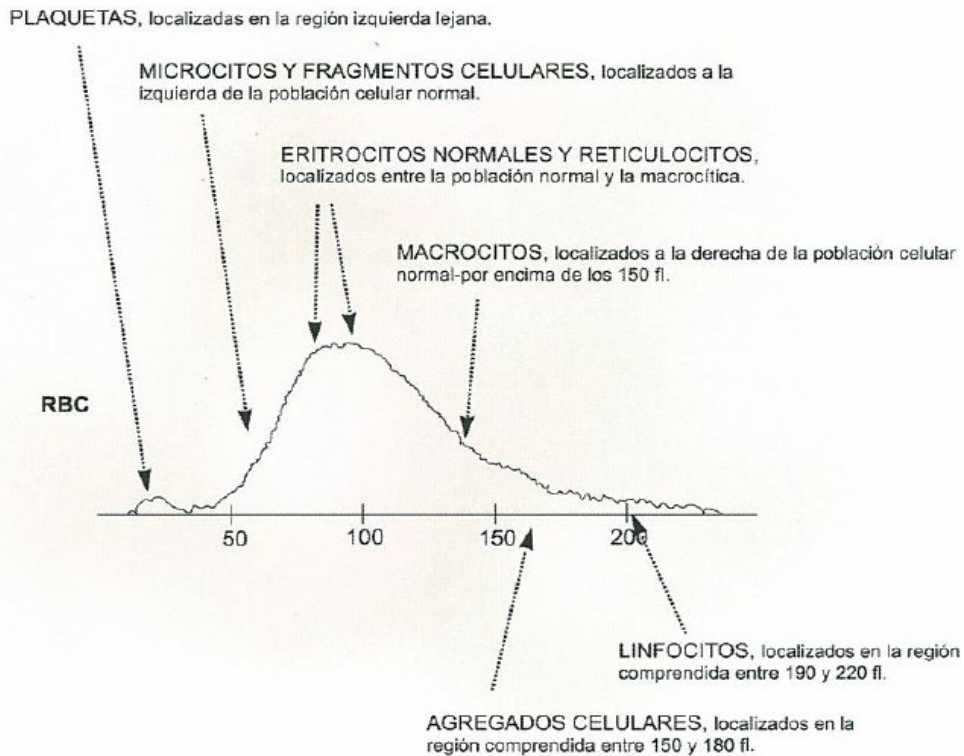


Durante la fase de conteo con esta metodología de impedancia cada partícula o célula que pase a través de la apertura generará un impulso eléctrico. La amplitud de este impulso eléctrico corresponderá de manera proporcional al tamaño de la partícula (volumen celular).

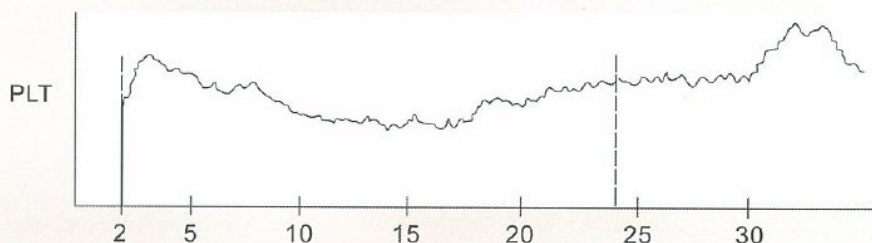
Cada impulso proveniente de eritrocitos y plaquetas es ordenado en base a su amplitud y colocado en un histograma con 256 canales o diferentes tamaños de impulso.



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.

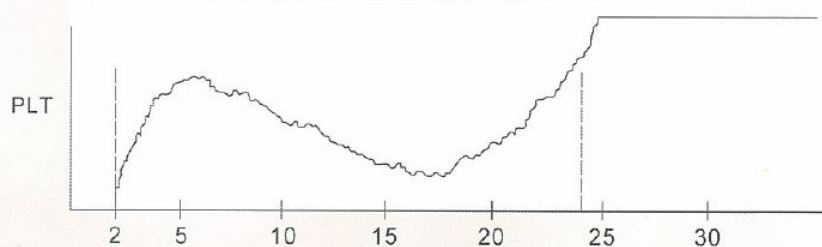


RECuento DE PLAQUETAS



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

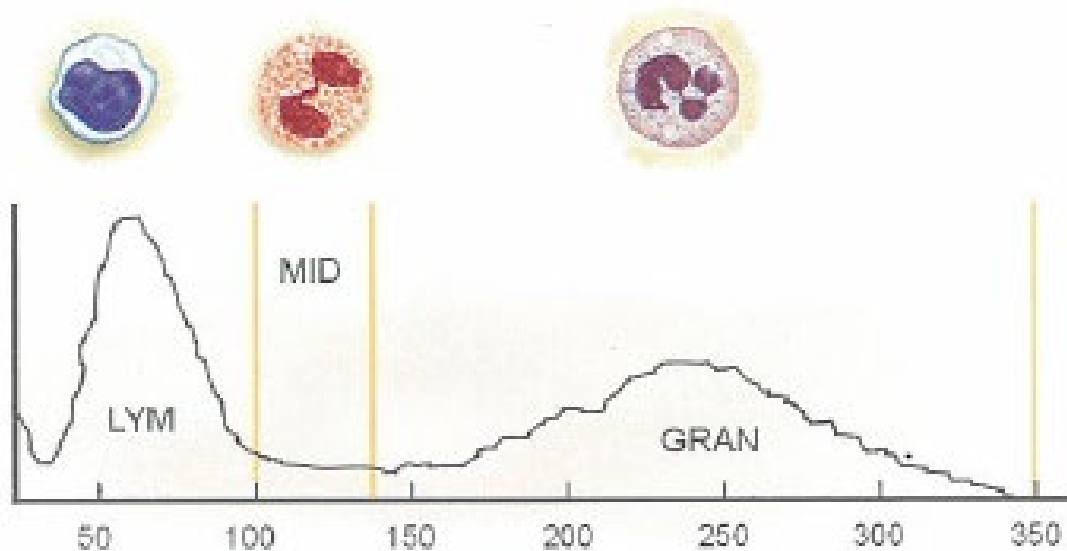
La medición del volumen de las células blancas mediante impedancia es posible gracias a la acción del reactivo lisante, el cual no realiza una lisis indiscriminada de las membranas celulares puesto que va a lisar las membranas eritrocitarias selectivamente con la ventaja adicional de liberar la Hb para 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

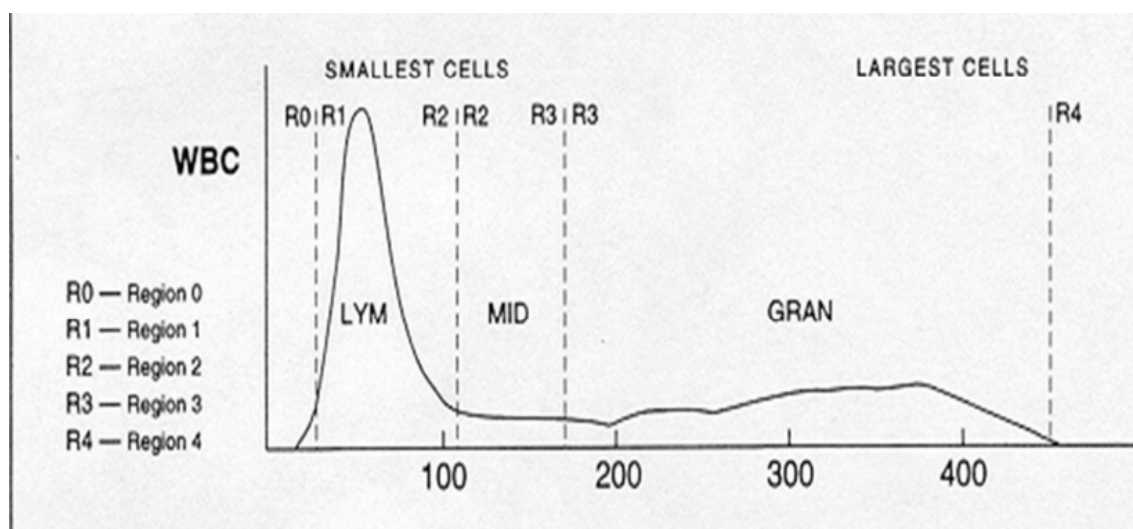
celular.



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

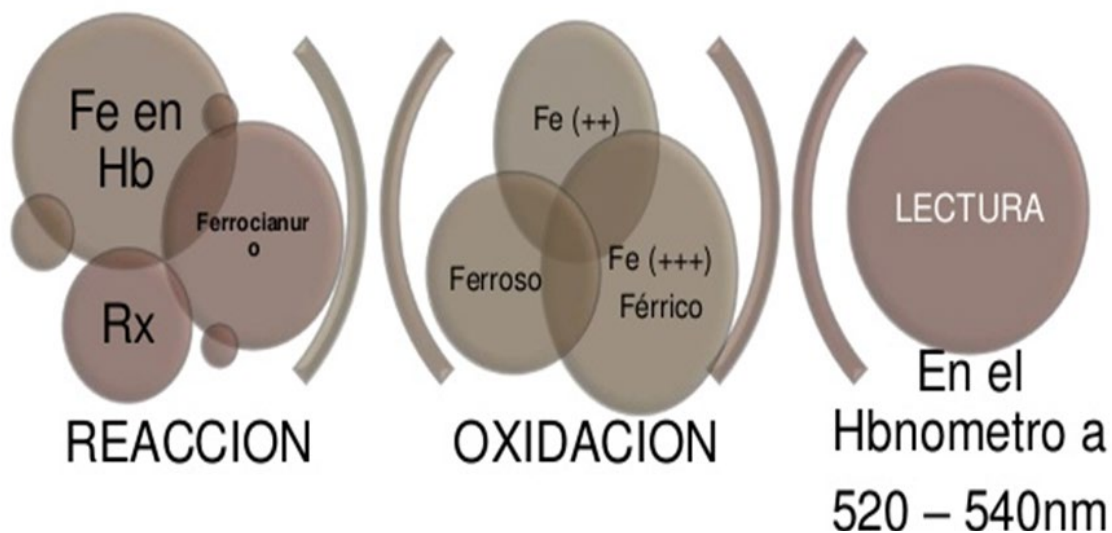
REGION MID (MIXTOS) va de 98 a 135 fl, las células que se encuentran en ésta área son generalmente eosinófilos, basófilos, monocitos aunque pueden ubicarse también blastos y plasmocitos. El R2 se activa cuando hay mayor de células plasmáticas, eosinófilos, y basófilos. El R3 si están alrededor de los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



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

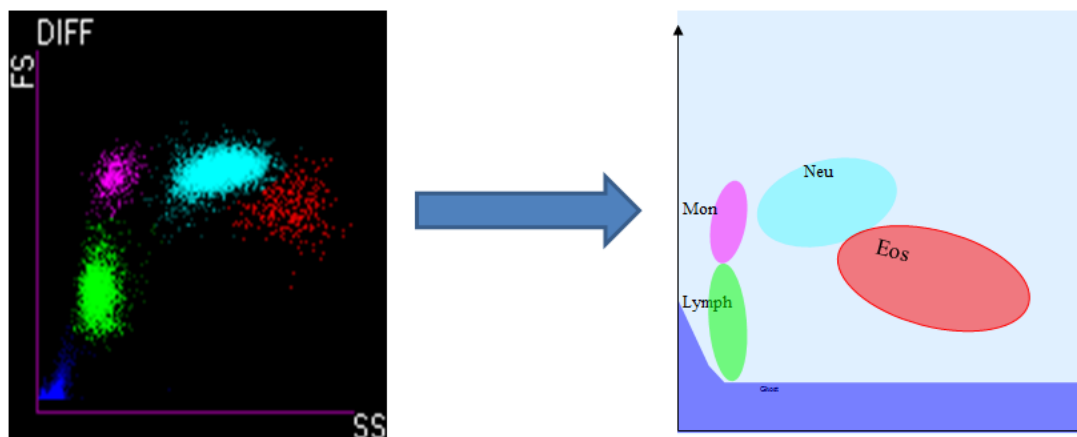
MAYOR REPRODUCIBILIDAD DE LOS RESULTADOS

REPRODUCIBILIDAD	MANUAL	AUTOMATIZADO



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

INTERPRETACIÓN DEL DISPERSOGRAMA



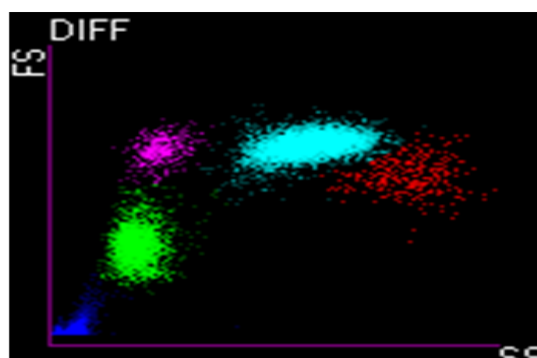
FS : Frontal Scatter / Dispersión Frontal / Información sobre el Tamaño celular

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

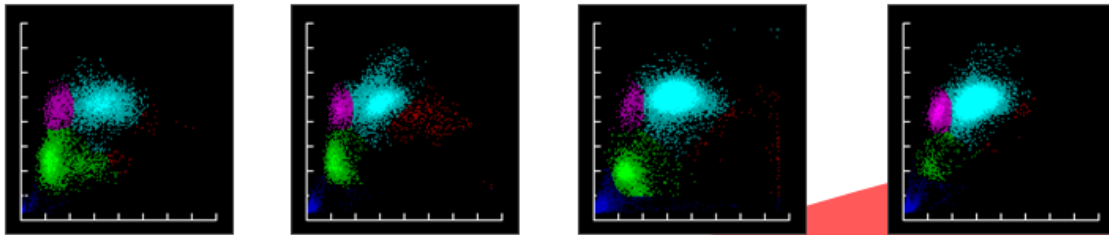
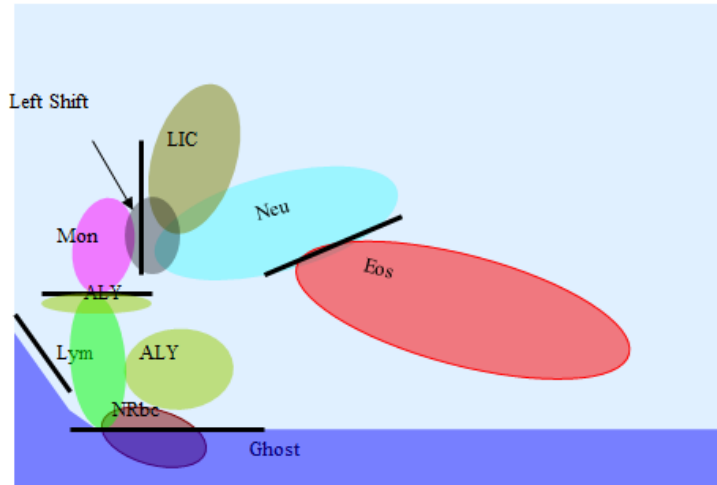
DISPERSOGRAMA / SCATTERGRAMA

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.



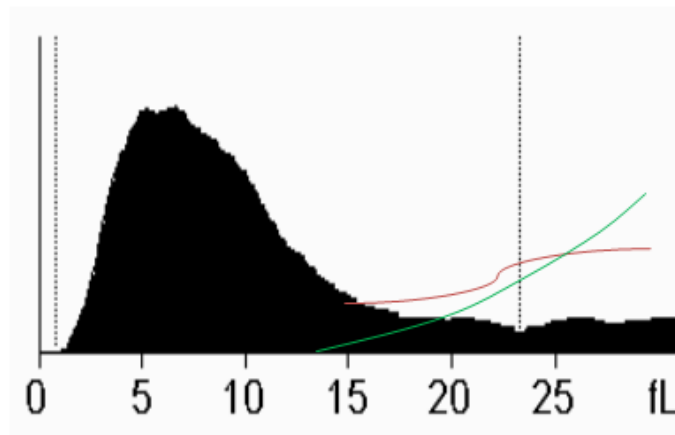
Muestras Anormales: Banderas



HISTOGRAMA DE PLAQUETAS

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

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



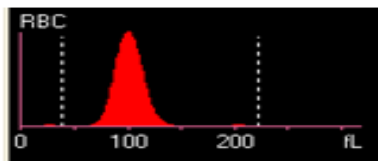
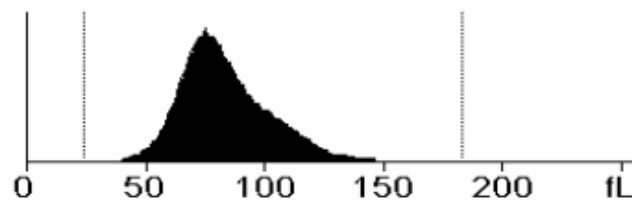
HISTOGRAMA DE GLOBULOS ROJOS

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

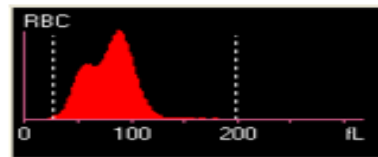
Observe la distribución casi simétrica de la población con el pico de la población cercana a los 87 fl. Observe además que existen hematias debajo de los 50 fl. Y encima de los 100 fl.

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

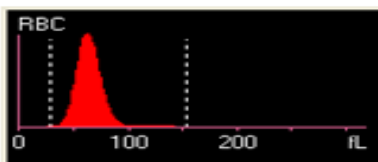
La posición de la campana sobre el eje horizontal representa la tendencia Micro, Normo o Macrocitica de la población.



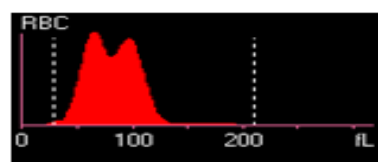
Normal people, the RBC histogram shape is in perfect Gaussian distribution.



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.

9. Sugerencias y /o recomendaciones

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

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- García Espinoza, Benjamín. Rubio Campal, Faustina, Crespo Gonzales, María Rosario (2015). Técnicas de análisis hematológico. 1ª ed. España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, Betty (2014). Hematología en la Práctica. 2ª Ed. Philadelphia USA : Amolca.
- Muñoz Zambrano María E.; Morón Cortijo, Cecilia G.(2005). Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre Francisco Javier, Moreno Campoy, Elvira Eva (2015). Manual para Técnico Superior de Laboratorio Clínico y Biomédico. 1º ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Henry John Bernard. (2007). El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. 1º ed. Madrid : Marbán Libros., S.L.
- Rodak Bernadette F. (2010). Hematología : Fundamentos y Aplicaciones Clínicas. 2º ed. Buenos Aires : Médica Panamericana.



Guía de laboratorio N° 15:

Control de calidad y calibración de equipos hematológicos

Sección :Docente:

Fecha :/...../202....

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 :

Realiza el control de calidad y calibración de equipos hematológicos.

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, realizar el control de calidad de los mismos y la calibración si hubiese alguna alteración hematológica

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.3. 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	Muestras para control de calidad de los tres niveles		3
2	calibradores		

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.

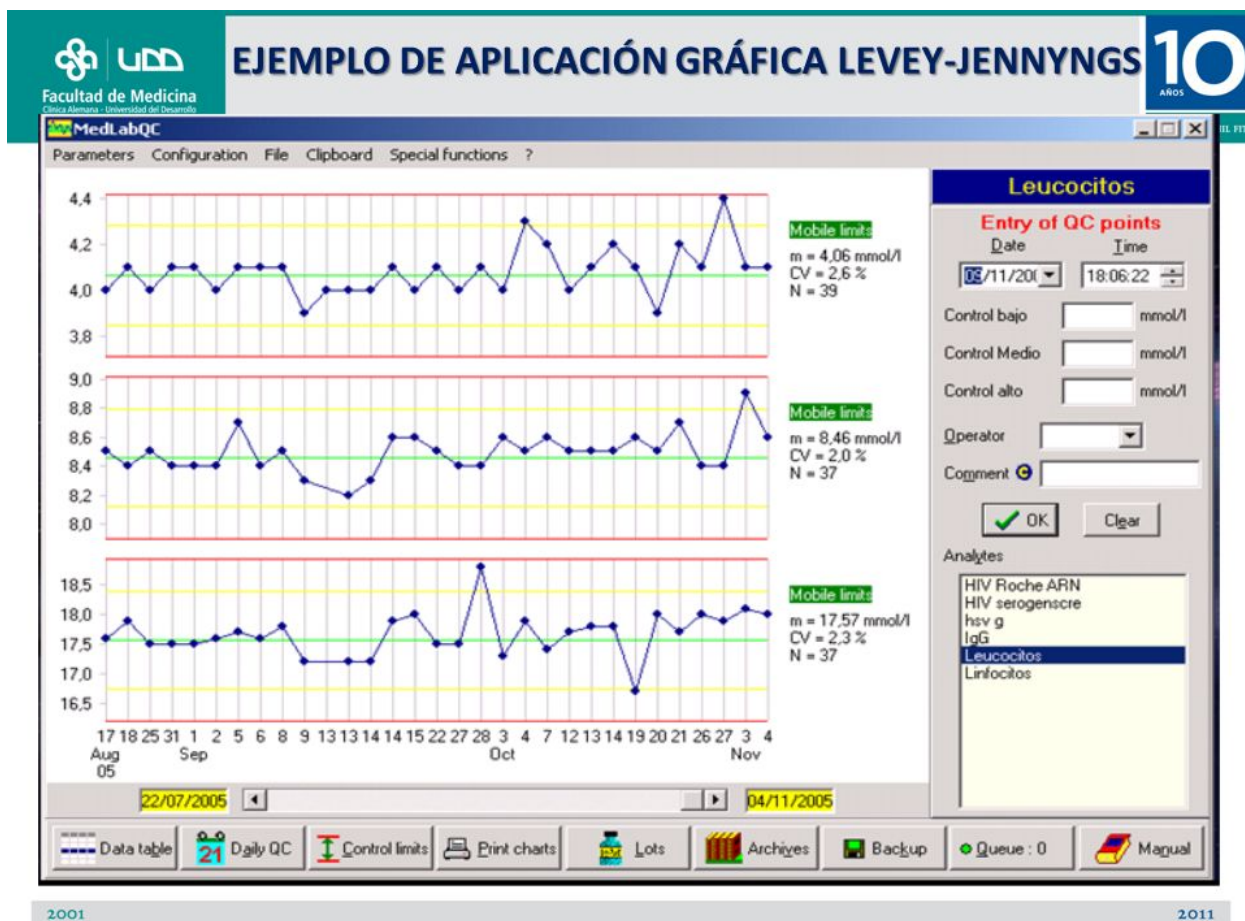
5. Procedimientos

Primero : Control de calidad

1º Se procesará como si fuera una muestra cualquiera, en la denominación del control de calidad respectivo alto, bajo o normal.

2º Se interpretarán los resultados obtenidos, y se evidenciarán en la curva de levey jennys.

3º Si éstos se encontraran fuera de los límites establecidos, se procederá a la calibración de los mismos.



Segundo : Calibración

1. Se hará uso de los calibradores, ingresando previamente en el equipo sus concentraciones en los diferentes parámetros.
2. Se procederá a calibrar en los parámetros que se encontraran observados en el control de calidad.



6. Resultados

1. El estudiante estará en la capacidad de realizar el control de calidad
2. El estudiante estará en la capacidad de realizar la calibración

7. Conclusiones

- 7.1 Diariamente debemos de realizar el control de calidad de nuestros equipos hematológicos, verificando que los parámetros a analizar se encuentren dentro de valores permitidos que garanticen los resultados de nuestras muestras a procesar.



10. Sugerencias y/o recomendaciones

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

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- García Espinoza, Benjamín. Rubio Campal, Faustina, Crespo Gonzales, María Rosario (2015). Técnicas de análisis hematológico. 1ª ed. España: Sanidad Laboratorio Clínico y Biomédico.
- Ciesla, Betty (2014). Hematología en la Práctica. 2ª Ed. Philadelphia USA : Amolca.
- Muñoz Zambrano María E.; Morón Cortijo, Cecilia G.(2005). Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Mérida de la Torre Francisco Javier, Moreno Campoy, Elvira Eva (2015). Manual para Técnico Superior de Laboratorio Clínico y Biomédico. 1º ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Henry John Bernard. (2007). El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. 1º ed. Madrid : Marbán Libros., S.L.
- Rodak Bernadette F. (2010). Hematología : Fundamentos y Aplicaciones Clínicas. 2ª ed. Buenos Aires : Médica Panamericana.