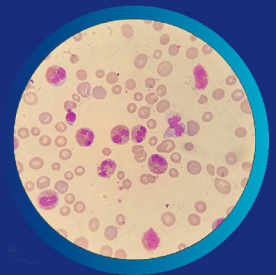
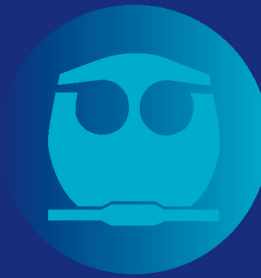
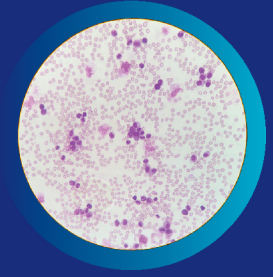
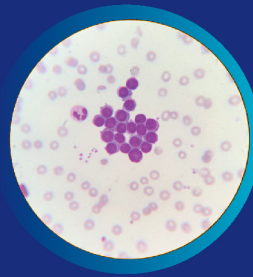




UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE QUÍMICA  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

# Hemato logía



## Experimental

QFB ARACELI MENDIETA RERGIS

---



# **HEMATOLOGÍA EXPERIMENTAL**

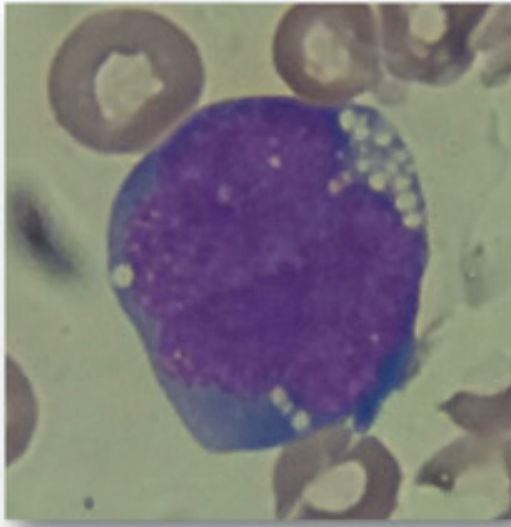




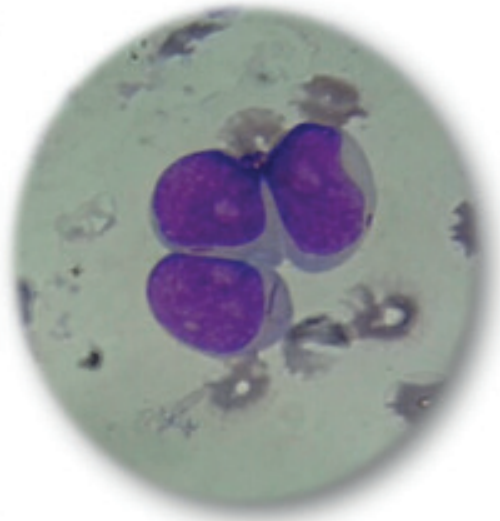
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE QUÍMICA  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA



# HEMATOLOGÍA EXPERIMENTAL



Blasto con vacuolas



Blastos con Auer

**QFB ARACELI MENDIETA RERGIS**

**Coordinador de la obra: Hugo Antonio Hernández Pérez**

Las imágenes de la portada, tomadas por la propia autora, muestran alteraciones en su morfología, la de la izquierda es una célula linfoide en etapa de blasto con presencia de vacuolas. Las células de la derecha son blastos con una estructura denominada *cuerpos de Auer*.

Primera edición: 2021

Fecha de edición: 15 de marzo de 2021

D.R. © 2021 UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
Ciudad Universitaria, Alcaldía Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México.  
ISBN: 978-607-30-4757-9

“Prohibida la reproducción total o parcial por cualquier medio,  
sin la autorización escrita del titular de los derechos patrimoniales”.  
Impreso y hecho en México

**Publicación autorizada por el Comité Editorial de la Facultad de Química**

# ÍNDICE

<b>Agradecimientos</b> .....	viii
<b>Introducción</b> .....	ix
<b>Capítulo 1</b> Frotis y tinciones.....	1
<b>Capítulo 2</b> Cuenta de reticulocitos.....	5
<b>Capítulo 3</b> Determinación de hematocrito.....	7
<b>Capítulo 4</b> Velocidad de sedimentación globular.....	11
<b>Capítulo 5</b> Importancia de la biometría hemática e interpretación de los índices eritrocitarios.....	15
<b>Capítulo 6</b> Morfología normal y anormal de serie roja .....	19
<b>Capítulo 7</b> Inducción de drepanocitos.....	29
<b>Capítulo 8</b> Morfología y características de la médula ósea .....	33
<b>Capítulo 9</b> Cuenta de leucocitos.....	37
<b>Capítulo 10</b> Morfología normal y anormal de leucocitos. Patologías de serie blanca más frecuentes .....	43
<b>Anexo I</b> Imágenes de anomalías de serie blanca .....	49
<b>Capítulo 11</b> Recomendaciones generales para realizar pruebas de coagulación. Tiempo de sangrado. Tiempo de trombina. Tiempo de trombina parcial y fibrinógeno e importancia en la clínica .....	53
<b>Anexo II</b> Valores de referencia en adultos. Biometría hemática.....	59

# AGRADECIMIENTOS

GRACIAS, DIOS.

Agradezco a la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México por haberme formado como profesionista y poder retribuir parte de lo que soy, al ejercer como docente en la misma.

Al profesor Raúl Garza por creer en mí y darme la oportunidad de ser docente.

A las profesoras Pilar Granada, Ruth Martín Fuentes y Adriana Mejía Chávez, quienes siempre me han brindado apoyo incondicional.

Al profesor Hugo Antonio Hernández Pérez por su valiosa participación e incondicional apoyo en el desarrollo de esta obra.

Al Instituto Mexicano del Seguro Social, Hospital de Especialidades del Centro Médico *La Raza*, Laboratorio de Hematología Especial, institución a la cual debo la experiencia y formación como profesionista amante de la morfología, al laborar en él y gracias al cual puedo enseñar.

De manera especial quiero mencionar a la Dra. Laura Arcelia Montiel Cervantes, porque me enseñó morfología desde mis inicios y me motivó a aprender.

Dedico este libro con todo mi amor a mi madre, QFB Alicia Rergis Sepúlveda, mi hermano QFB Ricardo Mendieta Rergis y, en especial, a un ser que me ha llenado de amor, motivación y felicidad: mi amado sobrino Ricardo Mendieta Salcedo. **Te amo, Ricky**, eres quien me motiva a seguir en la docencia.

Y a todas las personas que a lo largo de mi vida laboral han estado conmigo en este hermoso caminar de conocimiento y enriquecimiento personal y profesional.

**La autora**



# INTRODUCCIÓN

Una de las áreas más complejas y menos estudiadas en el laboratorio clínico es la Hematología; en esta área se necesita realizar una muy buena técnica en el manejo de la muestra en el laboratorio y tener un experimentado criterio para poder interpretar de manera correcta las alteraciones que se observan en el extendido de sangre periférica, ya que es una parte sumamente importante en el estudio hematológico. Esto se adquiere con base en la práctica, al realizar la técnica diariamente, y en la observación detallada que se hace a través del microscopio óptico.

Uno de los objetivos que persigue esta obra es contribuir en la enseñanza de los alumnos para que sean capaces de hacer descripciones con respecto a la morfología celular, en condiciones normales de las células y, también, establecer las alteraciones morfológicas que se presentan en algunas patologías de carácter hematológico. Para ello se incluyen una serie de actividades, donde los conocimientos teóricos se conjuntan de manera importante con la realización del trabajo práctico, de manera que se pueda obtener un resultado adecuado de la muestra trabajada.

La mayor parte de las imágenes han sido obtenidas de muestras trabajadas en el laboratorio de la Facultad de Química de la UNAM (corresponden a extendidos de sangre periférica o de médula ósea teñidos con la técnica de Wright) y se han observado en el microscopio óptico, sin hacer ningún retoque ni modificación para que sea una imagen más cercana a la realidad. Con ello se presentan las características morfológicas normales de las células que forman parte de la sangre (incluso se abordaron algunas patologías como anemias y leucemias, principalmente) y también algunas de carácter neoplásico identificadas con mayor frecuencia en la población.

En los primeros capítulos se da a conocer al estudioso de la hematología cómo manejar la muestra de sangre para iniciar el estudio de la misma; la estructura y función de la serie roja y toda la información que podemos obtener al realizar una adecuada observación y manejo de la muestra, así como hacer evidentes algunas patologías en las cuales la principal evidencia en el laboratorio es el cambio en la estructura de la morfología celular del eritrocito.

Más adelante se aborda el conocimiento de las estructuras celulares que forman parte de la serie blanca que ofrecen también una gran información acerca de varias patologías en donde es posible dar una pronta respuesta acerca del probable diagnóstico del paciente, el cual se debe verificar con pruebas confirmatorias para respaldar el resultado.

Se debe concientizar al personal de laboratorio sobre la importancia que tiene la observación cuidadosa del extendido de sangre periférica, ya que ésta nos proporciona una información muy valiosa sobre el estado de un paciente y su evolución en determinada patología.

Asimismo, cobra vital relevancia la adecuada interpretación de los valores que nos da el resultado de una biometría hemática, tanto en los resultados que nos da el aparato automatizado, como con la estrecha relación que tiene la observación de las células a través del microscopio óptico.

La citología hematológica sigue siendo en la actualidad un área fundamental en el laboratorio. Es por ello que se ha dado especial énfasis al estudio morfológico de las células que conforman la sangre (eritrocitos, leucocitos y plaquetas) y también de la médula ósea con el consiguiente estudio de las células precursoras de las tres líneas celulares.

Agradezco al editor, el haber depositado su apoyo y confianza.

**La autora**

### OBJETIVO

1. Adquirir la destreza necesaria para la realización del frotis:
  - Realizar la técnica de tinción.
  - Identificar si se realizó un adecuado frotis y una buena tinción al observar por medio del microscopio la monocapa de células y la identificación de las mismas, con base en sus características de tinción.

### INTRODUCCIÓN

El examen morfológico de las células hematopoyéticas requiere de la preparación de un frotis o extendido de sangre periférica bien realizado y teñido correctamente. Este examen proporciona más información que cualquier otro parámetro de laboratorio. La interpretación que debe darse a cada preparación realizada sólo se adquiere con la práctica y el estudio constante. Mediante el examen del frotis se pueden detectar alteraciones morfológicas en las series celulares que forman parte de la sangre periférica, gracias a lo cual es posible establecer un diagnóstico presuntivo de algunas alteraciones de serie roja, como pueden ser los diferentes tipos de anemias y otras patologías que involucran a leucocitos y plaquetas.

Podemos observar variación en forma, tamaño y contenido de hemoglobina en los eritrocitos, si presentan alguna forma de agrupación, si hay presencia de inclusiones, parásitos o algún microorganismo. Con respecto a los leucocitos y plaquetas, también podemos evaluar si hay alteraciones en la cantidad y/o las características morfológicas de las mismas.

Por lo anterior, es muy importante la calidad del extendido de sangre que no debe ser ni muy grueso ni muy delgado, el objetivo es obtener una monocapa de células para que sea fácilmente valorable al observar la preparación en el microscopio.

### MATERIAL Y REACTIVOS

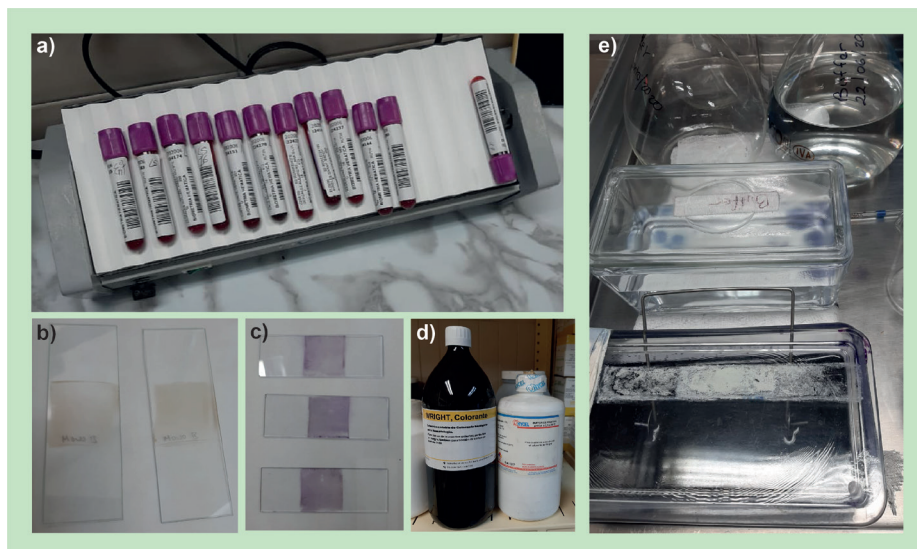
- Sangre venosa anticoagulada con EDTA
- Aplicadores
- Gradilla
- Portaobjetos
- Microscopio
- Colorante de Wright
- Solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8

## REALIZACIÓN DEL EXTENDIDO DE SANGRE PERIFÉRICA (FORMA DE CUADRO)

Colocar los tubos de las muestras en un mezclador para que se homogenicen durante unos minutos, antes de proceder a realizar los extendidos de sangre que se explican a continuación:

1. Colocar una gota de sangre sin coagular en uno de los extremos de un portaobjetos.
2. Sujetar el portaobjetos colocando los dedos pulgar e índice en extremos opuestos.
3. Con un segundo portaobjetos tocar la gota de sangre y por capilaridad esperar a que se difunda por el canto del mismo, en un ángulo aproximado de 30°.
4. Una vez que la muestra se ha difundido por el canto del portaobjetos, deslizar levemente hacia arriba y después dejar caer el portaobjetos cuidadosamente para deslizarlo rápida y firmemente en dirección opuesta.

Se debe obtener un extendido homogéneo, ya que si existe presencia de espacios o exceso de sangre en alguno de los extremos no es una preparación valorable. De la misma manera, si quedan rayones o estructuras que no permitan la observación de un cuadro homogéneo se debe realizar de nuevo la preparación en otro portaobjetos limpio, libre de grasa y de cualquier otra partícula que pueda interferir en el momento de realizar el deslizamiento de la muestra. Una vez que se haya cumplido con lo anterior, se puede proceder con la tinción.



**Figura 1.1** a) Muestras de biometría homogeneizándose en el balancín, para poder realizar el extendido; b) extendido de sangre periférica sin teñir en forma de cuadro; c) extendido de sangre periférica con tinción de Wright; d) reactivos empleados para la tinción de Wright: colorante y buffer de fosfatos, e) canastillas de tinción, en una se coloca el colorante y en otra el buffer para proceder con la tinción.

## TINCIÓN DE WRIGHT

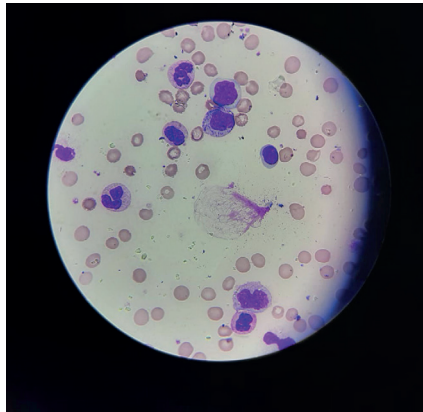
La extensión sanguínea se tiñe después de haberse secado. Prácticamente todos los métodos empleados para teñir las células de la sangre se basan en el empleo del colorante Romanowsky, constituido fundamentalmente por la mezcla de eosina y azul de metileno, los cuales se encuentran disueltos en metanol (actúa como fijador para las estructuras celulares). Se llevará a cabo un proceso de oxidación con el cual se forman las estructuras denominadas *azules*, las cuales tienen afinidad a ciertas estructuras celulares como

los mucopolisacáridos y el ácido desoxirribonucleico (ADN) que presenta el fenómeno de metacromasia, característico en el núcleo de los leucocitos, obteniendo una tonalidad parecida al vino tinto. Dicha tonalidad también la pueden adquirir ciertas estructuras que forman parte de algunos gránulos.

### FUNDAMENTO

Los colorantes usados son mezclas de compuestos básicos como el azul de metileno y ácidos como la eosina. Las estructuras ácidas de la célula como el ácido ribonucleico (ARN), algunas proteínas de los núcleos celulares y el citoplasma inmaduro fijan al azul de metileno que es un colorante básico y por eso se une a las estructuras ácidas.

La eosina es un colorante ácido y se une a las estructuras celulares que tienen carácter básico como la hemoglobina y otras proteínas básicas que se encuentran dentro de algunos gránulos. Otras estructuras se tiñen con ambos colorantes o tienen afinidad a los dos, ya que su estructura posee carácter ácido y básico, por ello se denominan *neutrófilos*.



**Figura 1.2** Frotis con tinción de Wright visto con el objetivo de 10X. Imagen tomada en los laboratorios de la FQ.

### EXAMEN DEL FROTIS

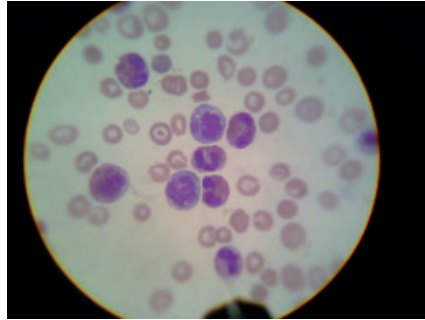
El examen del frotis o extendido se efectúa después de haber realizado la tinción de Wright. El frotis se observará primero con el objetivo 10X, con el fin de observar la distribución celular y las características de la tinción. Se debe seleccionar un campo en la parte central de la muestra y, en este objetivo, realizar la apreciación de leucocitos, aquí podemos establecer si los leucocitos en la muestra se encuentran dentro de los parámetros de normalidad, disminuidos o elevados.

Se deben identificar las células teñidas de serie roja y los leucocitos, así valoramos si se realizó el frotis de manera adecuada respecto al grosor y si se realizó una correcta tinción.

Posteriormente, se observa con el objetivo 40X, en este objetivo se realiza la cuenta diferencial y además se pueden observar alteraciones de las series celulares.

Las plaquetas se observan con el objetivo 100X para apreciar su cantidad. De esta manera se obtiene una valiosa información para añadir a los resultados obtenidos en la biometría, en la cual se tienen los parámetros numéricos que complementaremos con las observaciones realizadas de la muestra y que el equipo automatizado no puede reportar.

Lo más relevante de esta determinación es poder reportar alteraciones morfológicas que sólo al observar la muestra se pueden evidenciar.



**Figura 1.3** Frotis con tinción de Wright visto con el objetivo de 10X. Imagen tomada en los laboratorios de la FQ.

### TÉCNICA DE TINCIÓN

En una charola de tinción que tiene varillas en forma paralela, se colocan los frotis en posición horizontal.

Se añade colorante de Wright sobre el frotis, de manera que quede cubierta la superficie por completo. Deben estar nivelados para que no se escurra el colorante, se deja actuar durante 30 o 40 segundos y, posteriormente, se agrega el buffer de fosfatos con cuidado de que no se derrame el colorante: se trata de cubrir el portaobjeto para que se forme una capa que al mezclarse con el colorante la tornará a un aspecto metálico. Se deja de 5 a 10 min, dependiendo de la madurez del colorante.

Finalmente, se lava la tinción al chorro del agua y se deja secar, para después observar al microscopio.

### PROBABLES ERRORES EN LA REALIZACIÓN DEL PROCEDIMIENTO

- Falta de mezclado de la sangre previo a la elaboración de frotis.
- Al realizar el extendido del frotis que éste sea hasta el borde distal de la laminilla o portaobjeto.
- Mal lavado de la laminilla.
- Buffer con un pH inadecuado (muy ácido/alcalino)
- Portaobjetos con grasa, polvo o huella dactilar

### BIBLIOGRAFÍA

Vives, J.L. y Aguilar, J.L. *Manual de Técnicas de Laboratorio en Hematología*, 4ª Ed., editorial Masson: España, 2014.

Williams, J. *et al. Hematología*, 6ª Ed., editorial Marbán, España, 2005.

### OBJETIVO

1. Valorar de manera sencilla la producción eritrocitaria.

### INTRODUCCIÓN

Los reticulocitos son eritrocitos que contienen restos de ARN residual, mitocondrias y fragmentos de organelos. En condiciones normales, los reticulocitos permanecen en la médula ósea de 2 a 3 días y terminan su maduración al salir a sangre periférica en las siguientes 24 o 48 horas. Durante este tiempo, es degradado este material, ya que terminan de sintetizar la hemoglobina que falta. Posteriormente, se convierten en células maduras denominadas *eritrocitos*.

Actualmente, el recuento de reticulocitos es la prueba disponible más simple para valorar la actividad eritropoyética de la médula ósea. Así, cuando una anemia se acompaña de un elevado número de reticulocitos circulantes se considera regenerativa; mientras que cuando el número es normal o disminuido, se considera arregenerativa. Por ello, esta determinación se ha considerado una técnica complementaria en el estudio de anemias.

Con el empleo de citotóxicos (quimioterapia) y del trasplante de médula ósea es muy importante realizar este tipo de determinación, para evaluar la capacidad de respuesta medular. El recuento de reticulocitos debe realizarse a partir de sangre total con anticoagulante EDTA y, de ser posible, dentro de las primeras 24 horas después de tomar la muestra.

### FUNDAMENTO

Los organelos citoplasmáticos y el ARN residual de los reticulocitos son precipitados y aglutinados con la presencia de nuevo azul de metileno o azul de cresilo brillante, que es una tinción supravital; esto permite la formación de estructuras filamentosas fácilmente visibles mediante el microscopio. No todos los reticulocitos presentan el mismo grado de madurez. Así los más inmaduros poseen abundantes precipitados citoplasmáticos, mientras que los más maduros, por el contrario, poseen un fino y escaso precipitado que muchas veces suele pasar inadvertido.

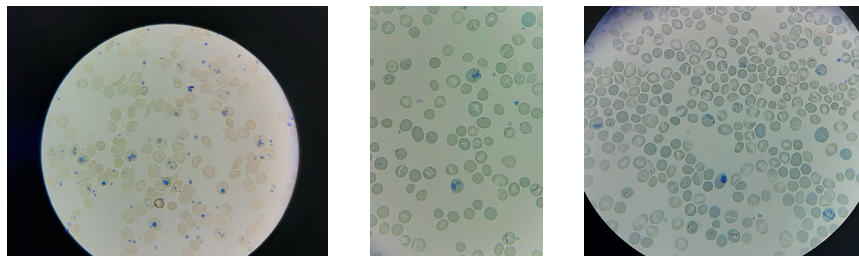


Figura 2.1 Tinción de reticulocitos con azul de metileno. Imágenes tomadas en los laboratorios de la FQ.

## MATERIAL Y REACTIVOS

- Sangre venosa anticoagulada con EDTA
- Microscopio
- Contador celular
- Solución de nuevo azul de metileno o azul de cresilo brillante
- Aceite de inmersión
- Tubos de ensayo de 10x75 mm
- Aplicadores
- Portaobjetos
- Gradilla

## TÉCNICA

1. Colocar en un tubo de ensayo 5 gotas de sangre.
2. Agregar 5 gotas del colorante supravital.
3. Mezclar y dejar reposar en la gradilla durante 15 minutos a temperatura ambiente.
4. Mezclar de nuevo y tomar una gota del tubo para realizar el extendido en el portaobjeto y dejar secar.
5. Observar el frotis en el objetivo de inmersión 100X.
6. Contar las células que presentan la retícula en un total de 1000 eritrocitos.

## CÁLCULO

% RETICULOCITOS = número de reticulocitos/1000 X 100

VALORES DE REFERENCIA

% reticulocitos = 0.5-2.0 %

$$\% \text{ reticulocitos} = \frac{\text{reticulocitos}}{\text{eritrocitos}}$$

$$\% \text{ reticulocitos absoluto} = \frac{\% \text{ reticulocitos} - \text{Hto paciente}}{45\%}$$

$$IPR = \frac{\% \text{ reticulocitos absoluto}}{(1.5 - 2.5)}$$

$$3 \geq IPR \geq 2$$

**Figura 2.2** Recuento de reticulocitos.

## BIBLIOGRAFÍA

Vives, J.L. y Aguilar, J.L. *Manual de Técnicas de Laboratorio en Hematología*, 4ª Ed., editorial Masson: España, 2014.



## OBJETIVO

1. Realizar la determinación de microhematocrito y relacionar el resultado con una muestra problema.

## INTRODUCCIÓN

El hematocrito representa la proporción de glóbulos rojos en la sangre circulante. Este valor depende del número de glóbulos rojos de la sangre periférica, de la forma y tamaño de los mismos. Al igual que el de la hemoglobina, la cuenta de eritrocitos es uno de los parámetros importantes para determinar los índices eritrocitarios. El hematocrito está directamente relacionado con la concentración de hemoglobina, por lo que su determinación constituye el procedimiento más simple para el diagnóstico de la anemia. Así, un descenso del hematocrito es un indicativo de anemia, mientras que un aumento lo es de poliglobulia. Debe tomarse en cuenta que el volumen plasmático (hemoconcentración) se traducirá como un aumento relativo del hematocrito y, por tanto, en una falsa poliglobulia; por el contrario, un aumento del volumen plasmático (hemodilución) producirá un descenso del hematocrito y con ello una falsa anemia. La hemoconcentración es un parámetro que puede estar modificado o alterado por circunstancias como el nivel del mar, hidratación, deshidratación, género, toxinas (tabaquismo, asbestos) o incluso por enfermedades de carácter genético.

## FUNDAMENTO

El hematocrito es el volumen de eritrocitos expresada como un porcentaje del volumen de sangre total existente en una muestra. Es determinado en sangre anticoagulada por medio de centrifugación y es expresado en porcentaje.

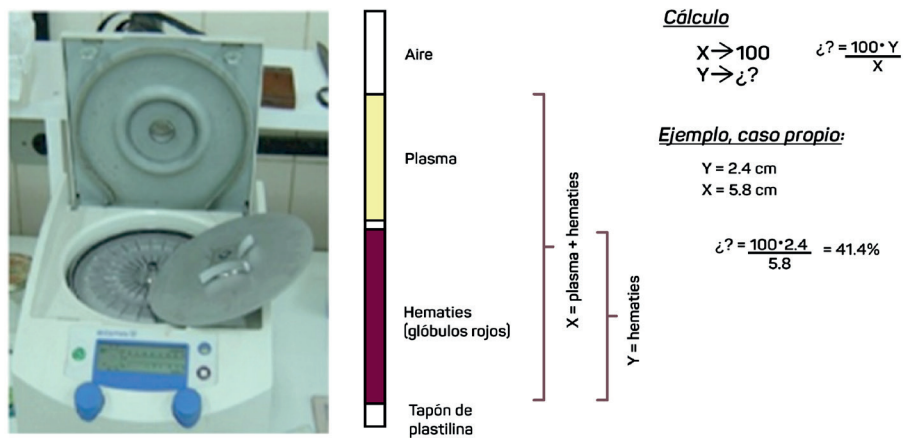


Figura 3.1 Centrifuga para hematocrito y ejemplo de cálculo.

## MATERIAL Y EQUIPO

- Sangre venosa con anticoagulante EDTA
- Capilares
- Mechero
- Centrifuga para hematocrito
- Disco lector de hematocrito

## TÉCNICA DE MICROHEMATOCRITO

- Se llenan las 2/3 partes de dos tubos capilares con sangre del tubo proveniente de la biometría.
- El extremo vacío se cierra a la flama, efectuando un movimiento rotatorio, para sellar perfectamente.
- Los capilares se colocan en los canales o surcos de la centrifuga con el extremo cerrado dirigido hacia afuera. Centrifugar a 12 000 r.p.m. durante 5 minutos.

## CÁLCULOS

Usando el disco lector de hematocrito se determina el valor de hematocrito en valor %. Si no se tiene el disco lector, se puede realizar manualmente, midiendo la altura  $M_2$  con relación al volumen total de la muestra  $M_1$  y se calcula de la siguiente forma:

$M_1$  \_\_\_\_\_ 100%                      donde X corresponde al valor del hematocrito

$M_2$  \_\_\_\_\_ X %

## VALORES DE REFERENCIA

HOMBRES \_\_\_\_\_ 45+/- 5%

MUJERES \_\_\_\_\_ 42+/- 5%

NIÑOS \_\_\_\_\_ 38+/-5%

## PROBABLES ERRORES EN LA REALIZACIÓN DEL PROCEDIMIENTO

- Llenado incorrecto del tubo capilar, al menos un 70% de su capacidad.
- Incluir en la lectura capa de leucocitos, sobre todo en aquellos pacientes que presenten patologías con cuentas elevadas de los mismos.
- Formación de burbujas en el plasma.
- Centrifugado inadecuado.

## BIBLIOGRAFÍA

Vives, J.L. y Aguilar, J.L. *Manual de Técnicas de Laboratorio en Hematología*, 4ª Ed., editorial Masson: España, 2014.

Williams, J. *et al. Hematología*, 6ª Ed., editorial Marbán: España, 2005.



### OBJETIVO

1. Efectuar la técnica de la velocidad de sedimentación de los eritrocitos en una muestra patológica y relacionar su resultado con la clínica.

### INTRODUCCIÓN

En una muestra de sangre, el descenso de glóbulos rojos causa un desplazamiento hacia arriba del plasma; en la sangre normal las fuerzas descendente y ascendente son casi iguales y hay poca sedimentación; asimismo, los eritrocitos no se aglomeran, porque tienen carga negativa y se repelen mutuamente. Cuando los eritrocitos se aglomeran o forman pilas de monedas, se incrementa la velocidad de sedimentación globular. Las causas por las cuales se origina la aglomeración de eritrocitos son el aumento de proteínas en el plasma o aumento de fibrinógeno, principalmente. Además, ya se sabe que en algunas patologías se modifica la velocidad de sedimentación como es en anemias, infecciones bacterianas, virosis, neoplasias, trastornos gastrointestinales y renales, cirugías, quemaduras y traumatismos importantes.

Las propiedades físicas de la sangre cuyo estudio tiene interés clínico son tres:

1. Velocidad de sedimentación globular (VSG).
2. Viscosidad plasmática y de sangre total.
3. Volumen total de la sangre (volemia) y volúmenes plasmáticos (plasmemia) y presencia de células ajenas o patológicas de la serie blanca, roja y/o plaquetas.

La eritrosedimentación parece obedecer a interacciones electrostáticas entre la superficie de los eritrocitos y diversas proteínas del plasma que la favorecen como el fibrinógeno y las globulinas o disminuyen su agregabilidad, siendo el caso de la albúmina. Este fenómeno depende de los siguientes factores:

1. Tamaño de los eritrocitos.
2. Diferencia de densidad entre los eritrocitos y el plasma.
3. Viscosidad del plasma.
4. Temperatura.

La velocidad de sedimentación globular se realiza en tres etapas:

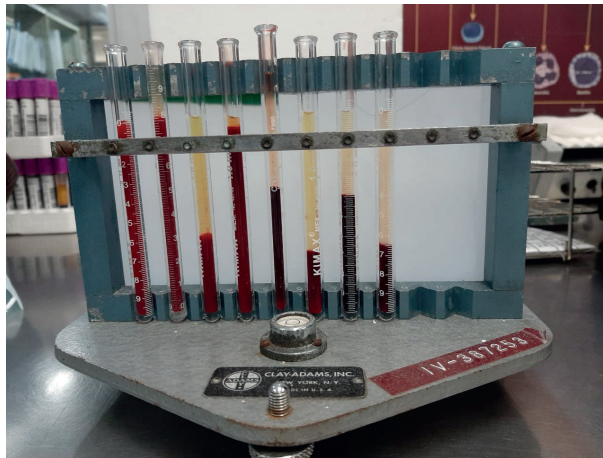
1. Aglutinación de los eritrocitos con formación de agregados en forma de pilas de moneda.
2. Sedimentación de los agregados a velocidad constante.
3. Acumulación de los eritrocitos en el fondo del recipiente.

## HEMATOLOGÍA EXPERIMENTAL

De estas etapas, la más importante es la primera, ya que de ella dependerá la velocidad de todo el proceso. Así, cuanto más pequeños sean los agregados, más lentamente se producirá la sedimentación y viceversa.

Los valores de referencia de la VSG se expresan en mm/hora y varían fundamentalmente con el género y la edad. Las determinaciones de la VSG a la segunda hora o a las 24 horas son poco fiables y carecen de significado clínico.

La VSG constituye un reactante de fase aguda y existen numerosas situaciones con alteraciones proteicas del plasma que cursan con modificaciones en su valor.



**Figura 4.1** Tubos Wintrobe para determinar la velocidad de sedimentación globular. Hombres: 0 a 10 mm/h; mujeres: 0 a 20 mm/h; métodos: Wintrobe (sangre entera no diluida) y Westergren (sangre diluida con NaCl al 0.85%).

## FUNDAMENTO

Los eritrocitos sedimentan porque su densidad es mayor que la del plasma, por lo que la velocidad de sedimentación es la distancia en mm que descienden los eritrocitos por unidad de tiempo, generalmente, una hora desde la parte superior de una columna de sangre hasta la parte superior de la capa de eritrocitos.

## MATERIAL Y EQUIPO

- Sangre venosa con anticoagulante
- Tubos de Wintrobe de 11.5 cm de largo
- Pipetas Pasteur con bulbo
- Gradilla de sedimentación

## TÉCNICA

1. Homogeneizar perfectamente la muestra de sangre.
2. Con una pipeta Pasteur, llenar con sangre un tubo de Wintrobe hasta la marca superior de 10, evitar la formación de espuma, no debe quedar ninguna burbuja de aire dentro de la columna o en el fondo.

3. Colocar el tubo de Wintrobe en posición vertical en una gradilla de sedimentación por un lapso de 60 minutos.
4. Informar el resultado en milímetros en una hora.

### **CÁLCULOS Y RESULTADOS**

- Determinar la velocidad de sedimentación globular.
- Informar el resultado de la distancia en milímetros en una hora.

### **PROBABLES ERRORES EN LA REALIZACIÓN DEL PROCEDIMIENTO**

- Dejar transcurrir más de dos horas entre la toma de muestra y el montaje de la prueba.
- Efectuar la prueba a temperaturas muy altas o muy bajas.
- No mezclar bien la muestra.
- El tubo no se encuentra en posición vertical.
- Presencia de burbujas.

### **BIBLIOGRAFÍA**

Vives, J.L. y Aguilar, J.L. *Manual de Técnicas de Laboratorio en Hematología*, 4ª Ed., editorial Masson: España, 2014.





### OBJETIVO

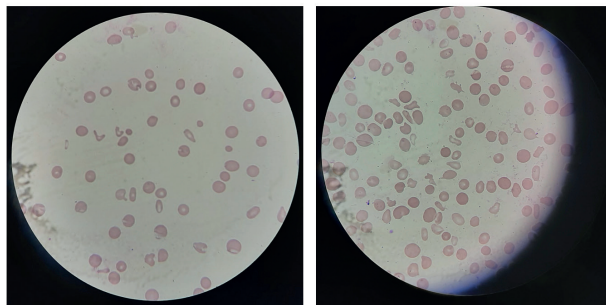
1. Interpretar los resultados de un hemograma, relacionando los valores de índices eritrocitarios, y comparar el valor del ADE con la muestra del extendido, para comprender la importancia de realizar el frotis de cada biometría realizada.

### INTRODUCCIÓN

El estudio de la sangre periférica es de suma importancia en el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades hematológicas. El recuento de células rojas, de los distintos tipos de leucocitos y de plaquetas, habitualmente obtenido mediante contadores automatizados de partículas, y el estudio de la extensión o frotis de sangre periférica para valorar los cambios cualitativos y cuantitativos de una muestra nos sirve para diagnosticar enfermedades específicas, dar un seguimiento adecuado del proceso de la enfermedad de manera cuantitativa y cualitativa, de las posibles anomalías de las estirpes celulares, así como dar seguimiento a la respuesta terapéutica de la patología en cuestión.

En un típico contador automático, la sangre aspirada de una muestra es dividida en dos, una es lisada y diluida para medir la concentración de hemoglobina y el recuento de leucocitos, la otra es diluida, pero sin lisis para el recuento y medida de las células rojas y las plaquetas. Algunos instrumentos también permiten el recuento de reticulocitos.

En 1921, Wintrobe diseñó un sistema para aprovechar mejor la información proporcionada por un simple hemograma relacionando la concentración de hemoglobina, cuenta de eritrocitos y el valor del hematocrito a través de los llamados *índices eritrocitarios*.



**Figura 5.1** Índices eritrocitarios. Eritrocitos de diversos tamaños y formas nos ilustran lo que significan los índices eritrocitarios, alteración en el tamaño de la célula y alteración de la cantidad de la hemoglobina. Imágenes tomadas en los laboratorios de la FQ.

Estos índices permiten conocer el valor medio del tamaño del eritrocito (VCM), del contenido individual de hemoglobina (HCM) y la concentración de hemoglobina por litro de eritrocitos (CHCM). La práctica clínica ha demostrado que los índices eritrocitarios, en especial el VCM, son prácticamente imprescindibles para realizar el diagnóstico y la clasificación del tipo de anemia que se trata.

## HEMATOLOGÍA EXPERIMENTAL

### VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO (VCM):

El volumen medio de cada eritrocito se calcula a partir del hematocrito y de la concentración de eritrocitos mediante la siguiente fórmula:

$$\text{VCM} = \text{Hematocrito} \times 10 / \text{Número de eritrocitos}$$

### HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MEDIA (HCM):

El contenido de hemoglobina que se encuentra en cada eritrocito se determina mediante el cociente entre la concentración de hemoglobina y el número de eritrocitos:

$$\text{HCM} = \text{Hemoglobina} \times 10 / \text{Número de eritrocitos}$$

### CONCENTRACIÓN DE LA HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MEDIA (CHCM):

Este parámetro corresponde a la concentración de hemoglobina por cada litro de eritrocitos y se calcula a partir de la concentración de hemoglobina y del hematocrito.

$$\text{CHCM} = \text{Hemoglobina} / \text{Hematocrito} \times 100$$

Dependiendo de los índices eritrocitarios, una anemia se puede clasificar:

- MICROCÍTICA-HIPOCRÓMICA
- NORMOCÍTICA-NORMOCRÓMICA
- MACROCÍTICA-NORMOCRÓMICA

El aumento de CHCM nunca obedece a un aumento de la síntesis de hemoglobina, sino siempre a una alteración de la membrana o del contenido acuoso del eritrocito. Morfológicamente, el aumento en CHCM se pone de manifiesto por la aparición de eritrocitos intensamente teñidos o hiperocrómicos. Esta determinación es útil ya que podemos detectar aumentos en la concentración media de la hemoglobina corpuscular, ya que en este caso su valor es siempre superior a 35 g/L.

### Índices Eritrocitarios

Cálculo	Significado	Valores de referencia
$\text{VCM} = \frac{\text{Hto}}{\text{\#eritrocitos}} \times 10$	Volumen Corpuscular Medio	80 a 100 fl
$\text{HCM} = \frac{\text{Hb (g/dl)}}{\text{\#eritrocitos}} \times 10$	Hemoglobina Corpuscular Media	28 a 32 pg
$\text{CHCM} = \frac{\text{Hb (g/dl)}}{\text{Hto (\%)} \times 100}$	Concentración de la Hemoglobina Corpuscular Media	32 a 36 g/dl

**Figura 5.2** Valores de referencia y cálculo de los índices eritrocitarios.

**Tabla 5.1** Valores de referencia de los índices eritrocitarios.

POBLACIÓN	VCM (fl)	HCM (pg)	CCHM (g/L)
RECIÉN NACIDOS	105	35	36
NIÑOS 4-10 AÑOS	82	27	34
ADULTOS	89±9	29±2	32±2

## MATERIAL Y REACTIVOS

- Muestra de sangre anticoagulada y resultado del hemograma
- Portaobjetos
- Charola de tinción y puente
- Colorante de Wright
- Buffer de fosfatos
- Microscopio y aceite de inmersión

## TÉCNICA

1. Realizar un extendido de sangre periférica.
2. Teñir con colorante de Wright.
3. Colocar buffer de fosfatos.
4. Enjuagar al chorro de agua.
5. Dejar secar.
6. Observar en microscopio en objetivo de inmersión.

## CÁLCULOS Y RESULTADOS

Examinar la laminilla en inmersión y buscar aquellas zonas en las cuales los eritrocitos estén lo más separados posibles para poder observar adecuadamente las características de tamaño, contenido de hemoglobina y si la población es homogénea o heterogénea. Relacionar lo observado con el resultado del hemograma, el cual debe coincidir con los valores numéricos y lo observado.

## BIBLIOGRAFÍA

Vives, J.L. y Aguilar, J.L. *Manual de Técnicas de Laboratorio en Hematología*, 4ª Ed., editorial Masson: España, 2014.

Williams, J. *et al. Hematología*, 6ª Ed., editorial Marbán: España, 2005.



### OBJETIVO

1. Conocer las características de la morfología de las células sanguíneas normales, para poder hacer evidentes los cambios que presentan las células en un estado patológico.

### INTRODUCCIÓN

La información que se obtiene al examinar una extensión de sangre adquiere gran importancia, ya que mediante la morfología del eritrocito se puede valorar:

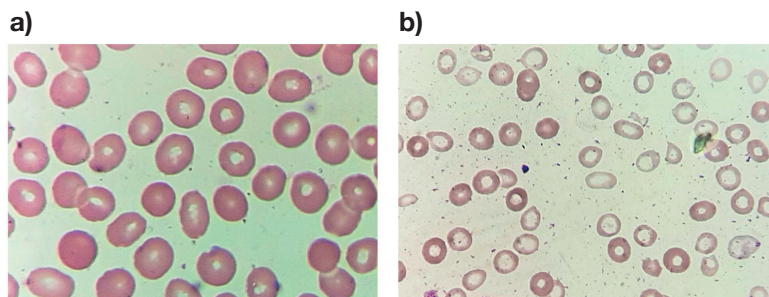
- Hallazgos de anomalías de maduración nuclear y del citoplasma.
- Problemas de hemólisis.
- Presencia de inclusiones.

#### *ERITROCITO*

El eritrocito presenta una forma bicóncava con un área central pálida y mide aproximadamente  $7\mu\text{m}$  en promedio. En cada laminilla pueden investigarse las características generales de tamaño, forma y cantidad de hemoglobina; presencia de inclusiones y tipo de agrupación que puedan adquirir los eritrocitos. A continuación, se presentan las anomalías más frecuentes de los eritrocitos.

#### *ERITROCITO NORMAL*

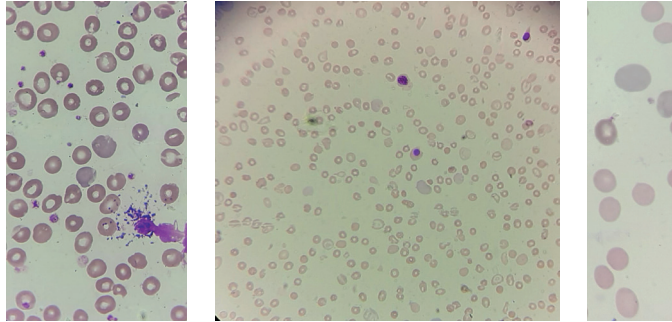
Célula circular rosada, con un diámetro de  $7-8\mu\text{m}$  y sin estructura interna. Se observa en el centro de la célula una zona clara, causada por su forma de disco bicóncavo.



**Figura 6.1** a) Eritrocitos normales y b) eritrocitos anormales.  
Las imágenes de este capítulo fueron tomadas en los laboratorios de la FQ.

*RETICULOCITO*

Es un eritrocito joven sin núcleo, pero con ARN residual, mitocondrias y resto de organelos en el citoplasma. En las tinciones policromatófilas, el reticulocito presenta un volumen mayor al del eritrocito y basofilia difusa (indicativo del contenido de ARN).

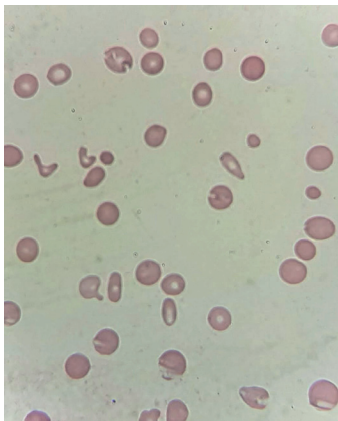


**Figura 6.2** Basofilia difusa, aumento de reticulocitos.

*ALTERACIÓN DEL TAMAÑO DE LOS GLÓBULOS ROJOS*

► ANISOCITOSIS

Alteración o desigualdad en el tamaño de los eritrocitos.



**Figura 6.3** Anisocitosis, poiquilocitosis, anisocromía y punteado basófilo.

► HIPOCROMÍA

Eritrocitos que presentan disminución en el contenido de hemoglobina, se observan pálidos y con un anillo en la periferia que denota la presencia de poca cantidad de hemoglobina.

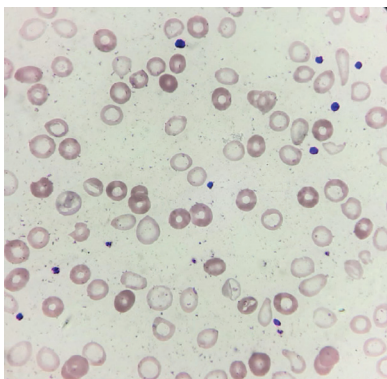


Figura 6.4 Hipocromía y microcitosis.

► MICROCITOSIS

Predominan los eritrocitos con tamaño menor de 6 micras y volumen menor de 80 fl.

► MACROCITOSIS

Predominan los eritrocitos con tamaño entre 8 y 11 micras.

► ANISOCROMÍA

Alteraciones en la coloración del eritrocito debido al contenido de hemoglobina.

► POLICROMASIA O BASOFILIA DIFUSA

Eritrocitos jóvenes que aún presentan parte de material ribosómico que da la basofilia y como aún no termina de sintetizarse la hemoglobina, la coloración que se hace evidente es de tonalidad grisácea.

► ACANTOCITOS

Eritrocitos con espículas de longitud variable distribuidas irregularmente sobre la superficie. Aparecen cuando la membrana está dañada por alteraciones en el contenido de lípidos en daño hepático, trastornos lipídicos o enfermedades renales.

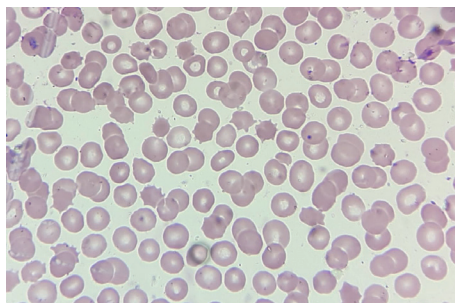


Figura 6.5 Acanthocitos.

► CODOCITOS

Células en forma de campana con un aumento en la relación superficie/volumen, toman aspecto de blanco de tiro, rodeado por una zona acrómica o hipocrómica y anillo exterior de hemoglobina. Se presenta en muchas hemoglobinopatías, talasemias y enfermedades hepáticas.

► DACRIOCITOS

Célula circular con una elongación simple o extremo puntiagudo, como en forma de gota. Esta alteración se puede observar en las anemias megaloblásticas, también en procesos neoplásicos donde está alterada la estructura del estroma medular.

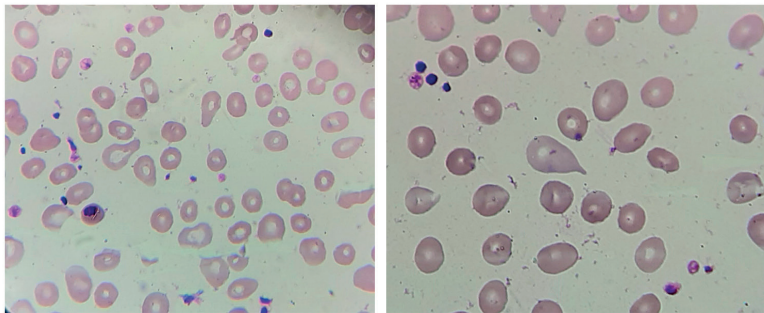


Figura 6.6 Diacrocitos.

► DREPANOCITO

Eritrocitos que contienen HbS polimerizada que pueden observarse en forma de media luna, se encuentra en hemoglobinopatías S y en la enfermedad del rasgo falciforme.

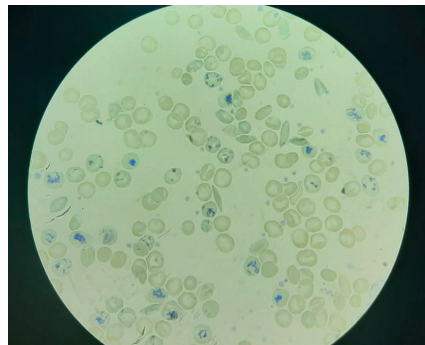


Figura 6.7 Drepanocitos con tinción supravital.

► ELIPTOCITOS

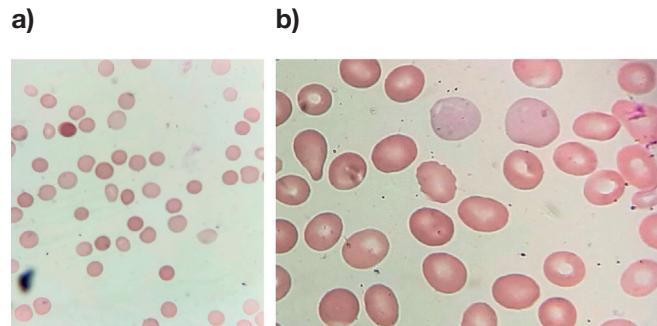
Célula elipsoide oval o alargada con área central de palidez y hemoglobina en ambos extremos. Se presenta en pacientes con eliptocitosis, anemia ferropenia, talasemias.



► ESFEROCITOS

Eritrocitos en forma esférica sin aclaramiento central, debido a la pérdida de membrana por cambios en su estructura causada por alteraciones de las proteínas del citoesqueleto.

Se presenta en esferocitosis hereditaria, anemias hemolíticas autoinmunes y quemaduras graves, principalmente.

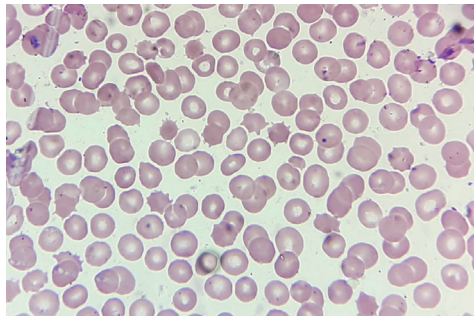


**Figura 6.8** Esferocitos (a) y basofilia (b), las células más grandes de color ligeramente gris.

► EQUINOCITOS O CRENOCITOS

Eritrocitos espiculados con proyecciones cortas distribuidas de manera regular en toda la superficie.

Se pueden encontrar en problemas renales, neoplasias o en ocasiones sin necesidad de presentarse una patología específica.



**Figura 6.9** Crenocitos.

► ESQUISTOCITOS

Eritrocito fragmentado debido a traumatismos intravasculares por acción de la fibrina que pueden adquirir forma triangular o de coma. Son muy característicos de algunas patologías, por lo que llegan a ser diagnósticos de las mismas; por ejemplo, la púrpura trombocitopénica trombótica, del síndrome hemolítico urémico y de la coagulación intravascular diseminada.

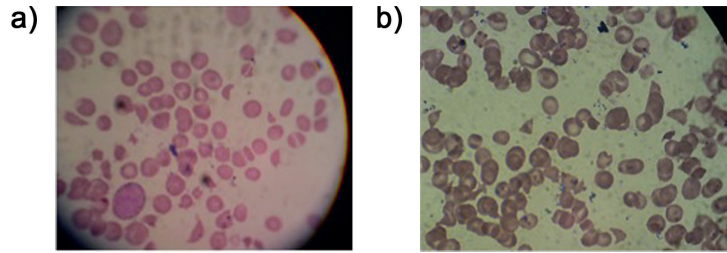


Figura 6.10 a) Queratocitos y b) esquistocitos.

► ERITROCITOS NUCLEADOS

Son llamados *eritroblastos*, se observan en anemias hemolíticas y son debidos a la eritropoyesis extramedular. Pueden ser policromáticos u ortocromáticos.

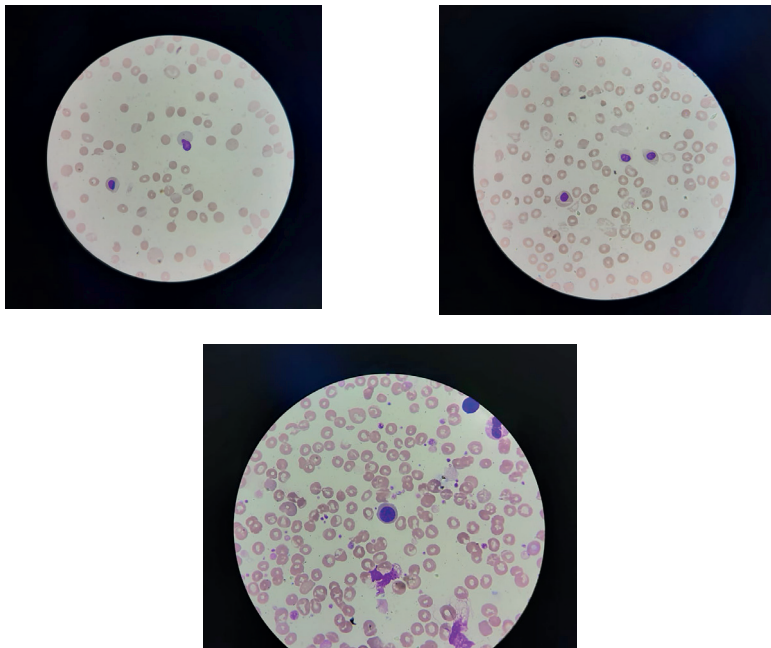


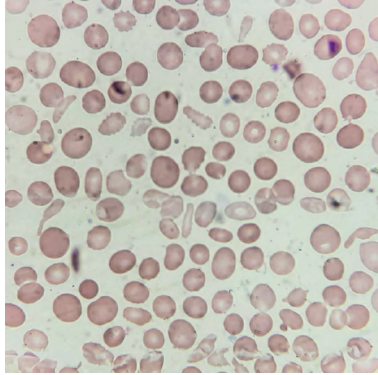
Figura 6.11 Eritrocitos anormales-nucleados.

► OVALOCITOS (MACROOVALOCITOS)

Eritrocitos en forma de óvalo. Generalmente en las anemias megaloblásticas por alteración en la síntesis de DNA hay un aumento en la síntesis de hemoglobina y a expensas de ésta hay un crecimiento de la célula.

► POIQUILOCITOSIS

Marcada variación de la forma de los eritrocitos de forma muy irregular. Presente en algunas patologías como las talasemias.

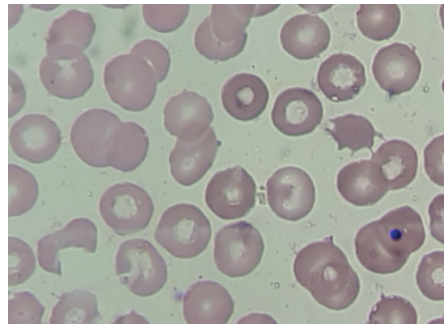


**Figura 6.12** Macroovalocitos y poiquilocitosis.

### *INCLUSIONES ERITROCITARIAS*

#### ► CUERPOS DE HOWELL-JOLLY

Corpúsculos redondos de color rojo violáceo derivados de la fragmentación del DNA. Se presenta como un gránulo esférico y se observa en anemias megaloblásticas, esplenectomías y anemias hemolíticas.



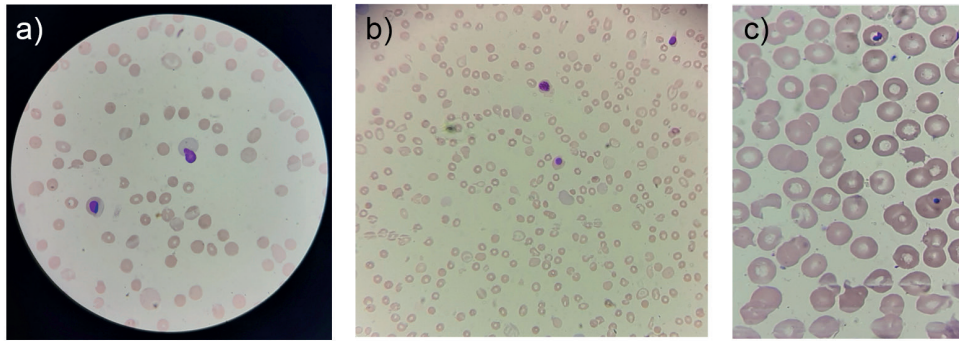
**Figura 6.13** Cuerpo de Howell-Jolly y (inclusión oscura) dentro del glóbulo rojo.

#### ► CUERPOS DE HEINZ

Presencia de corpúsculos que se originan de la desnaturalización de proteínas de membrana y de hemoglobina por la acción de agentes oxidantes que tienden a precipitar y se hacen evidentes con la tinción supravital. Se observan principalmente en anemias hemolíticas.

#### ► CUERPOS DE PAPPENHAIMER

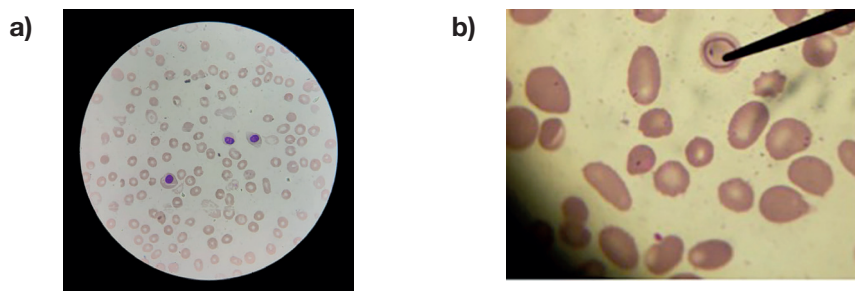
Son lisosomas que contienen mitocondrias con hierro, los cuales se hacen evidentes en el citoplasma del eritrocito en anemias sideroblásticas, principalmente en situaciones de intoxicación con plomo. Se observan varios gránulos oscuros en las células.



**Figura 6.14** a) Eritroblastos, b) plaqueta sobre un eritrocito, c) cuerpo de Howell-Jolly (cuerpo de inclusión).

► ANILLOS DE CABOT

Presencia de una estructura con apariencia de un hilo o listón dentro el eritrocito, el cual forma un anillo u ocho cerca de la membrana por una alteración al momento de la síntesis del DNA y se encuentra formado por fragmentos de histona. Se observa en algunas anemias hemolíticas y en la anemia megaloblástica.



**Figura 6.15** a) Eritroblastos y b) anillo de Cabot.

► PARÁSITOS

Presencia de parásitos dentro del eritrocito. Dependiendo del parásito, se puede ver por fuera de los eritrocitos.

*AGRUPACIÓN DE ERITROCITOS*

► ROULEAUX

Distribución de los eritrocitos caracterizada por el cúmulo de éstos de manera similar a una pila de monedas; este fenómeno se debe a una disminución en el potencial Z entre los eritrocitos por el alto contenido de proteínas en la sangre. Se presentan en patologías como el mieloma múltiple y en proteinurias. Se pueden observar cadenas largas o cortas, pero siguen su patrón característico.

► AGLUTINACIÓN

Presencia de grandes conglomerados de eritrocitos que parecen racimos, son característicos de anemias hemolíticas inmunes por presencia de anticuerpos fríos. Para poderlas trabajar, es necesario someter la muestra a calentamiento en baño María a 37 °C para procesar la muestra, tanto en el equipo automatizado como para realizar el extendido.

Capítulo 6. Morfología normal y anormal de serie roja

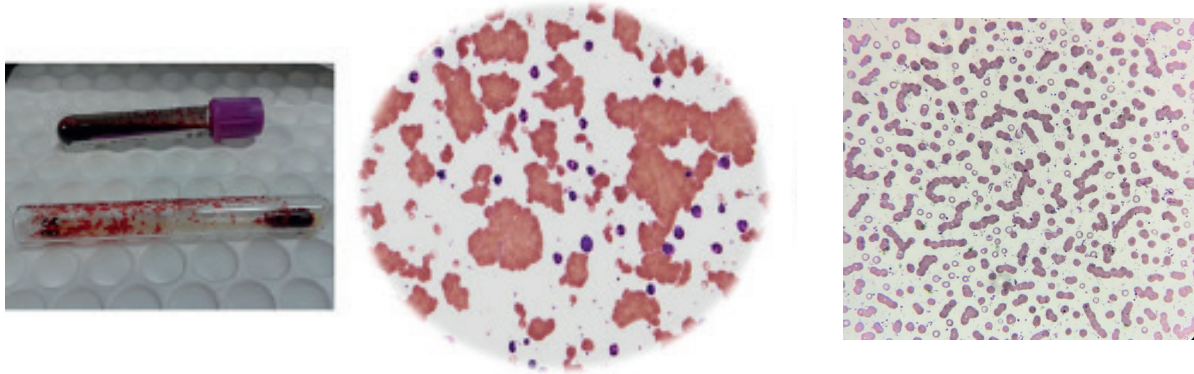


Figura 6.16 a) Muestra aglutinada y b) agrupación de Rouleaux.

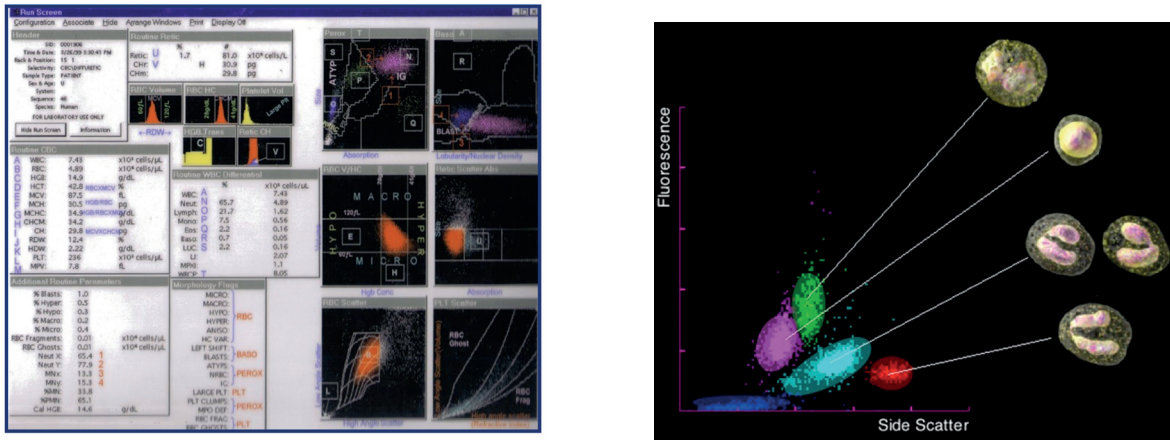


Figura 6.17 Histograma serie roja.

**BIBLIOGRAFÍA**

Sistema Hematológico. ADVIA 2120/2120i. *Especificaciones Técnicas. Guía del operador.* Systems Healthcare Diagnostics, Inc. 2008.



### OBJETIVO

1. Realizar la prueba de inducción de drepanocitos para confirmar la presencia de hemoglobina S y poder diagnosticar anemia drepanocítica.

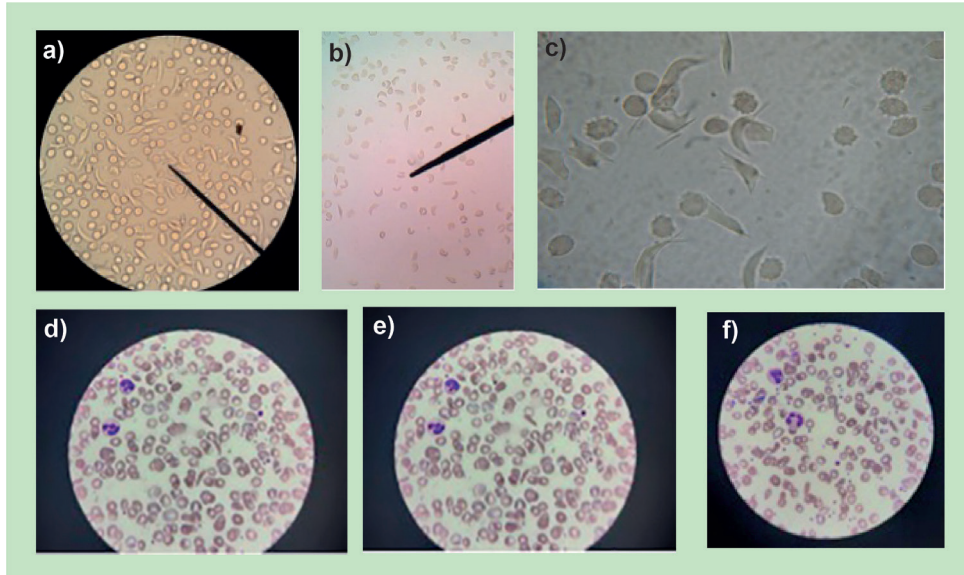
### INTRODUCCIÓN

En el proceso de síntesis de la molécula de hemoglobina se puede presentar una serie de alteraciones que van a dar origen a una diversidad de patologías, entre las más estudiadas están las hemoglobinopatías y dentro de este grupo está la denominada *hemoglobina S*, cuya presencia ocasiona la llamada *drepanocitosis*, una alteración en la secuencia de aminoácidos de la cadena beta de las globinas (sustitución de ácido glutámico por valina). Este cambio se traduce en una variación de las propiedades fisicoquímicas de la molécula, como es la solubilidad en condiciones de baja tensión en el oxígeno, polimerizando la hemoglobina y favoreciendo la forma característica de este tipo de anemia.

### HEMOGLOBINOPATÍAS

Las hemoglobinopatías son alteraciones cualitativas o cuantitativas de las globinas secundarias a mutaciones genéticas, cuya consecuencia puede ser una modificación estructural (hemoglobinopatías estructurales) o una disminución importante de la síntesis de una cadena globínica estructuralmente normal (talasemia); ambas son transmitidas por herencia y su estudio va íntimamente asociado a la historia clínica del paciente, los antecedentes propios o familiares, el origen étnico y otros exámenes hematológicos básicos (Hb, morfología eritrocitaria y sideremia, entre otros).

Las hemoglobinopatías estructurales son el resultado de una mutación (en general, sustitución de un aminoácido por otro) a nivel de una de las cadenas de globina. La hemoglobinopatía estructural mejor conocida es la *HbS*, esta Hb es estructuralmente normal, pero cuando se desoxigena, polimeriza y da lugar a la aparición de estructuras fibrilares, que deforman intensamente el eritrocito, haciendo que la célula adquiera forma de hoz o semiluna (eritrocito falciforme o drepanocito). La falciformación se acompaña de anemia hemolítica aguda por fragmentación de los eritrocitos en la microcirculación por la acumulación de eritrocitos falciformes y rígidos en los capilares periféricos. En general, la HbS produce manifestaciones clínicas en el estado homocigoto, es decir, cuando prácticamente toda la Hb es HbS. Las manifestaciones clínicas sólo se presentan cuando la HbS se somete a desoxigenación.



**Figura 7.1** Incisos a), b) y c): prueba de inducción de drepanocitos en donde se utiliza el reactivo metabisulfito de sodio al 1%, preparado en el momento de realizar la prueba, la cual favorece la polimerización de la hemoglobina S, para la formación del polímero. Incisos d), e) y f): tinción de Wright. Estructuras alargadas que muestran la morfología característica alargada del eritrocito en forma de drepanocito. Las imágenes de este capítulo fueron tomadas en los laboratorios de la FQ.

## FUNDAMENTO

La presencia de metabisulfito de sodio en una muestra de anemia falciforme provoca la disminución de la tensión de oxígeno y, por lo tanto, la deformación de los eritrocitos al polimerizarse las moléculas de hemoglobina S.

## MATERIAL Y REACTIVOS

- Muestra de sangre con anticoagulante EDTA
- Portaobjetos y cubreobjetos
- Tubos de 10 x 75 mm y aplicador de madera
- Gradilla
- Metabisulfito de sodio al 2% en agua destilada (recién preparado)
- Barniz de uñas
- Colorante de Wright y solución de buffer de fosfatos
- Colorante para reticulocitos



## TÉCNICA

1. En un portaobjeto colocar una gota de sangre y una gota de metabisulfito de sodio.
2. Mezclar muy bien con aplicador.
3. Colocar un cubreobjetos sobre la mezcla y sellar con barniz.
4. Paralelamente, se monta un control, sustituyendo al agente reductor por solución salina fisiológica.
5. Observar con el objetivo de 40X a los 15, 30 y 60 minutos.
6. Realizar un frotis.
7. Teñir con tinción de Wright.
8. Montar la tinción de supra vital para reticulocitos.

## CÁLCULOS Y RESULTADOS

La sola presencia de células falciformes (drepanocitos) se considera como prueba positiva, el control con solución salina resulta útil cuando existen alteraciones en la forma (poiquilocitosis) debidas a otras patologías.

Observar el frotis teñido con Wright y reportar todas las alteraciones morfológicas de serie roja que se encuentren y relacionar con el valor del hemograma, así como realizar la cuenta de reticulocitos y también relacionar este valor con el VCM de la biometría.

## VALORES DE REFERENCIA

Prueba de inducción: NEGATIVA

% Reticulocitos: 0.5-2.0%                      MUESTRA:      más del 2.0%

Frotis de sangre: drepanocitos, codocitos, esferocitos, basofilia difusa, eritroblastos, RDW más del 15.0%.

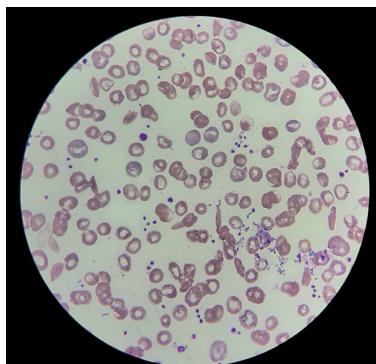


Figura 7.2 Observación de drepanocitos al microscopio.

## BIBLIOGRAFÍA

- Vives, J.L. y Aguilar, J.L. *Manual de Técnicas de Laboratorio en Hematología*, 4ª Ed., editorial Masson: España, 2014.
- Williams, J. *Hematología*, 6ª Ed., editorial Marbán: España, 2005.



### OBJETIVOS

1. Realizar tinción de extendidos de médula ósea.
2. Conocer la morfología de la médula ósea y observar las células que la forman.
3. Conocer los parámetros que se deben tomar en cuenta para valorar una muestra de médula ósea.

### INTRODUCCIÓN

La médula ósea es el tejido donde se forma la sangre, ocupa la cavidad de prácticamente todos los huesos y con el proceso evolutivo del individuo, parte de ella es reemplazada por tejido graso, quedando reducida a unas zonas concretas como el cráneo, la columna vertebral y la epífisis de los huesos largos.

El medio intercelular (microambiente medular) condicionado por el estroma, principalmente, constituido a su vez por el soporte reticular y el sistema vascular, es esencial para la regeneración de los progenitores y precursores hematopoyéticos y su maduración a elementos más diferenciados y finalmente a células sanguíneas.

Las células que se suelen hallar en la médula ósea son de varios tipos, pero todas ellas derivan de una única célula madre, cuyo número siempre permanece constante por el mecanismo de auto duplicación.

El estudio de la médula ósea puede realizarse a nivel morfológico y funcional. El nivel morfológico consiste en el examen microscópico de los precursores hematopoyéticos o en el citológico de sus cromosomas. El nivel funcional consiste en el estudio de los progenitores mediante cultivos *in vitro* de la médula ósea.

La exploración de la médula ósea es obligada ante cualquier trastorno de origen desconocido que altere el número y/o la proporción normal de las células sanguíneas. Asimismo, debe realizarse siempre que se observen células inmaduras en sangre periférica.

Existen dos procedimientos para explorar la médula ósea:

1. Punción aspirativa
2. Biopsia



Figura 8.1 Morfología de la médula ósea.

## MÉTODO

- Examinar las características morfológicas de la muestra.
- Teñir el extendido por el método de Wright.
- Examinar la extensión.

## PROCEDIMIENTO

Se debe observar mediante un objetivo de 10X para apreciar la celularidad global y la presencia, ausencia o aumento de células grasas y de megacariocitos.

Los megacariocitos se encuentran en una proporción aproximada de 1-2 por campo. La celularidad puede ser de tres tipos:

- NORMAL
- AUMENTADA
- DISMINUIDA

Después se observa a gran aumento con el objetivo de 100X (inmersión), lo que permite observar las características morfológicas de las diferentes células y se procede a realizar la cuenta de las células.

En la cuenta celular predominan los precursores granulopoyéticos sobre los eritroblastos. Los elementos de la serie eritropoyética pertenecen en su mayoría a eritroblastos policromáticos y ortocromáticos, siendo menos abundantes los eritroblastos basófilos y proeritroblastos.

Al observar las células, se deben contar y observar si existen alteraciones morfológicas y es importante considerar la presencia de elementos atípicos.

## RESULTADOS

Describir las características morfológicas de la muestra observada.

## BIBLIOGRAFÍA

Vives, J.L. y Aguilar, J.L. *Manual de Técnicas de Laboratorio en Hematología*, 4ª Ed., editorial Masson: España, 2014.

Williams, J. *et al. Hematología*, 6ª Ed., editorial Marbán: España, 2005.



### OBJETIVOS

1. Realizar el manejo adecuado de la cámara de Neubauer.
2. Distinguir y contar los glóbulos blancos presentes en la muestra.
3. Realizar la apreciación cuantitativa de leucocitos y plaquetas por medio de la observación de un frotis teñido.

### INTRODUCCIÓN

En la sangre normal pueden distinguirse los siguientes tipos de leucocitos:

- Polimorfo nucleares: neutrófilos, eosinófilos y basófilos
- Mononucleares: linfocitos y monocitos

El examen de los leucocitos comprende dos fases técnicas. Una fase cuantitativa, en la que se determina el número de leucocitos, las cifras absolutas y relativas de las diversas formas de glóbulos blancos. La segunda fase es la observación para evaluar la morfología celular. En ocasiones basta un examen de leucocitos para formular un diagnóstico específico; por ejemplo, en las leucemias. Con más frecuencia pueden ser de ayuda diagnóstica para establecer un pronóstico con relación al curso de la enfermedad.

Se conoce como recuento celular sanguíneo a la determinación de la concentración de células presentes en la sangre circulante (eritrocitos, leucocitos, plaquetas y reticulocitos). El recuento celular en cámara de Neubauer constituye un método de referencia basado en la dilución de la sangre total tratada con EDTA con una pipeta graduada (pipeta dilutora) y el recuento de las células mediante el hematocitómetro y un microscopio óptico convencional. Para calcular el valor final del recuento no se requiere memorizar fórmula alguna, sólo recordar tres datos:

1. Dilución efectuada
2. Área de la superficie contada
3. Altura de la cámara usada

El recuento de leucocitos ha quedado limitado en la actualidad, ya que los métodos automatizados son bastante precisos, aunque se sigue utilizando para el recuento celular de líquidos biológicos como líquido cefalorraquídeo (LCR), ascítico, pleural y otros.

### FUNDAMENTO

La sangre es diluida con líquido de Turk, una solución hipotónica de ácido acético glacial más un colorante como medio de contraste, esta solución lisa los eritrocitos maduros, pero los leucocitos permanecen intactos.

El núcleo se tiñe ligeramente, lo que facilita la cuantificación. Los eritroblastos no se destruyen, por lo que no se deben incluir en el valor verdadero de glóbulos blancos. Éstos se hacen evidentes en el frotis que se debe realizar y teñir con Wright. Hacer la corrección para ajustar la cuenta de los leucocitos totales. Relacionar la apreciación con la cuenta de leucocitos en cámara.

### MATERIAL Y REACTIVOS

- Sangre venosa con anticoagulante
- Microscopio
- Agitadores de pipetas
- Pipetas de Thoma para glóbulos blancos
- Tubos de ensayo de 13 x 100 mm
- Cámara de Neubauer
- Boquillas
- Gradilla
- Papel parafilm
- Líquido de Turk

### TÉCNICA

1. Homogeneizar perfectamente la sangre en la biometría.
2. Con la pipeta de Thoma aspirar hasta la marca de 0.5 y secar cuidadosamente la parte exterior de la pipeta.



**Figura 9.1** Pipeta de Thoma para aspiración de la muestra.

3. Completar con el líquido de Turk hasta la marca de 11, esta dilución corresponde a 1:20.
4. Agitar 2 minutos.
5. Colocar el cubrehematímetro en la cámara.
6. Desechar las primeras 4 o 5 gotas y cargar la cámara de Neubauer por capilaridad por uno de los bordes del cubrehematímetro.



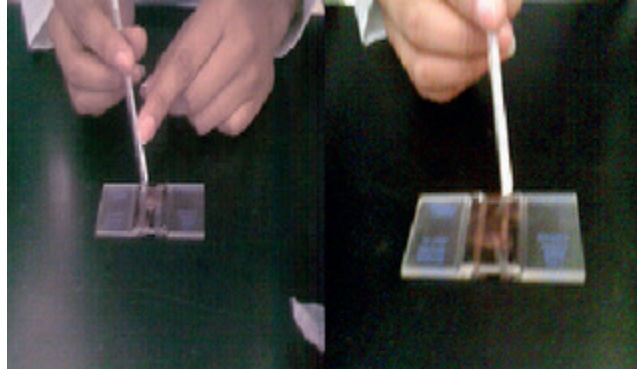


Figura 9.2 Cargado de la cámara de Neubauer por capilaridad.

7. Se deja que el líquido penetre lentamente entre la cuadrícula y el cubrehematímetro, sin que se formen burbujas ni huecos y sin sobrepasar los canales de la cámara.
8. Dejar reposar la cámara con la muestra durante unos minutos.
9. Observar con el microscopio utilizando el objetivo de 10X.
10. Se cuentan los leucocitos en cada uno de los cuadros de  $1 \text{ mm}^2$  de las esquinas de la cuadrícula de la cámara de Neubauer.

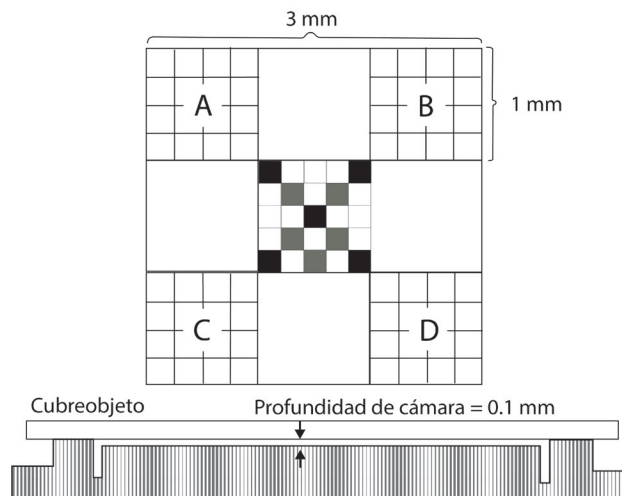
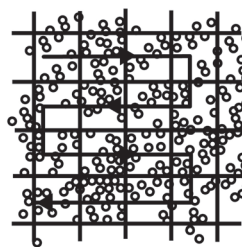


Figura 9.3 Diagrama de la pauta de Neubauer mejorada (grabada con mordiente en la superficie de cada lado del hemacitómetro). Los cuadrados grandes de los ángulos (A, B, C y D) se emplean para el cuento leucocitario. Los cinco cuadrillos negros del centro (en negro sólo en el dibujo, con fines didácticos) sirven para el recuento de eritrocitos y plaquetas, y el conjunto de 10 cuadrillos negros y sombreados, para contar asimismo las plaquetas. Cada uno de los 25 cuadrillos del milímetro cuadrado central presenta 16 cuadrillos aún más pequeños, para facilitar el recuento.

Abajo puede apreciarse la vista lateral de la cámara con el cubreobjeto colocado. Tomado de: Todd-Sanford, *Diagnóstico clínico por el laboratorio*, 6a Ed., Editorial Salvat: Barcelona, 1978.

### EJEMPLO DE CÁLCULO

#células contadas x factor de dilución: 200  
 Dilución: 1/20  
 Área de conteo = 4 mm<sup>2</sup>  
 Profundidad: 0.1 mm  
 Volumen: 0.4 mm<sup>3</sup>



Recuento con alta concentración celular

$$200 \times 20 \times \left( \frac{1}{0.4 \text{ mm}^3} \right) = \frac{10000 \text{ células}}{\mu\text{L}} = 10 \times 10^9 \text{ células/L}$$

Figura 9.4 Ejemplo para el cálculo de leucocitos.

#### APRECIACIÓN CELULAR

Para la apreciación celular en una extensión de sangre ésta debe realizarse de manera adecuada, así como una buena tinción, se observan unos cinco campos en la parte central del frotis; con el objetivo de 10X, en cada campo debe encontrarse una cantidad muy semejante de células para que sea valorable y considerarla representativa, con lo cual valoramos tanto al equipo automatizado como una buena realización del extendido. Para la apreciación de leucocitos se utiliza el objetivo de 10X. Para valorar la población de plaquetas se procede de igual manera, sólo que se debe observar en el objetivo de inmersión 100X. A continuación, se muestra una tabla que relaciona la cantidad encontrada de células y su correspondiente valor numérico.

#### APRECIACIÓN CELULAR PARA CONFIRMAR VALORES DEL HEMOGRAMA

LEUCOCITOS	OBSERVAR EN OBJETIVO DE	40X
4-10/CAMPO	NORMALES	4-10.0 X 10 <sup>9</sup> /L
3/CAMPO	APROX.	3.0 X 10 <sup>9</sup> /L
2/CAMPO	APROX.	2.0 X 10 <sup>9</sup> /L
1/CAMPO	APROX.	1.0 X 10 <sup>9</sup> /L
0-1/CAMPO	MENOS DE	1.0 X 10 <sup>9</sup> /L

PLAQUETAS	OBSERVAR EN OBJETIVO DE	100X
10-20/CAMPO	NORMALES	150-450 X 10 <sup>9</sup> /L
6-9/CAMPO	BAJAS	90-130 X 10 <sup>9</sup> /L
3-5/CAMPO	BAJAS**	50-90 X 10 <sup>9</sup> /L
2-1/CAMPO	BAJAS***	MENOS DE 50 X 30 <sup>9</sup>
0-1/CAMPO	BAJAS****	MENOS DE 10 X 30 <sup>9</sup> /L

Figura 9.5 Apreciación celular para confirmar valores del hemograma.

## CÁLCULOS Y RESULTADOS

Para obtener la cantidad de leucocitos /mm<sup>3</sup> se emplea la siguiente fórmula:

$$\text{Leucocitos / mm}^3 = NX 20X 10 / 4$$

$$\text{Leucocitos / mm}^3 = N \times 50$$

Donde:

N = número de leucocitos contados

20 = factor de dilución

10 = corrección por altura de la cámara

4 = número de cuadros de 1 mm<sup>2</sup> en los que contaron los leucocitos

**Tabla 9.1** Valores de referencia.

<i>POBLACIÓN</i>	<i>ERITROCITOS</i>	<i>LEUCOCITOS</i>	<i>PLAQUETAS</i>
<i>RECIÉN NACIDOS</i>	4.7 - 6.3	9.0 - 30.0	150 - 450
<i>NIÑOS 2-12 AÑOS</i>	4.0 - 5.3	5.0 - 14.0	200 - 400
<i>JÓVENES 12-18</i>	4.5 - 5.3	4.5 - 11.0	130 - 360
<i>HOMBRES</i>	4.1 - 5.1	4.2 - 11.0	170 - 380
<i>MUJERES</i>	4.6 - 5.9	4.1 - 10.0	170 - 380

## PROBABLES ERRORES EN LA REALIZACIÓN DEL PROCEDIMIENTO

- Pipeta mal calibrada.
- Llenado incorrecto de la cámara.
- Cámara o laminilla sucia.
- Puntas defectuosas.
- Cámara en mal estado de conservación.

## BIBLIOGRAFÍA

Vives, J.L. y Aguilar, J.L. *Manual de Técnicas de Laboratorio en Hematología*, 4ª Ed., editorial Masson: España, 2014.

Williams, J. *et al. Hematología*, 6ª Ed., editorial Marbán: España, 2005.



### OBJETIVO

1. Conocer las características de la morfología de serie blanca para hacer evidentes los cambios que presentan las células en las diversas patologías, en las cuales es importante su observación para apoyar el diagnóstico clínico.

### INTRODUCCIÓN

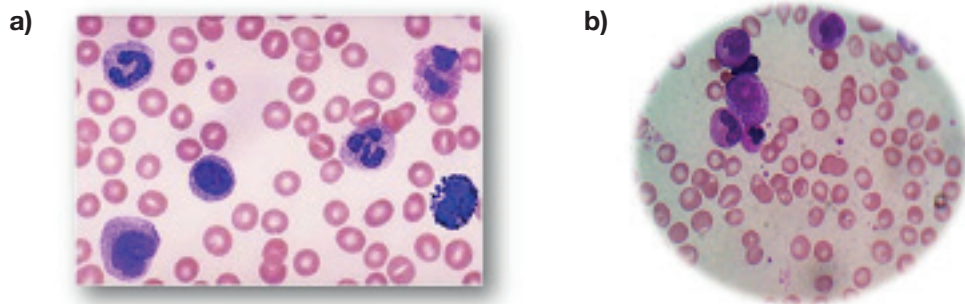
Las células que normalmente encontramos en la sangre periférica son:

Polimorfonucleares: neutrófilos, eosinófilos y basófilos.

Mononucleares: linfocitos y monocitos.

Estas células tienen características específicas, por lo que podemos identificarlas morfológicamente, pero también en algunos casos podemos encontrar células menos maduras que son indicativas de un proceso como una infección, al igual que podemos encontrar células neoplásicas o con alteraciones de la cromatina, en los lisosomas, presencia de vacuolas o alteraciones en la morfología que generalmente nos dan la información de que algo sucede en el organismo y ayudan a dar un probable diagnóstico, por eso es muy importante realizar un buen extendido y una buena tinción, ya que las alteraciones morfológicas no son evidenciadas por el equipo automatizado y nos dan mucha información.

Se mencionan las características morfológicas de varias células que podemos encontrar con frecuencia al observar una muestra.



**Figura 10.1** Sangre periférica: a) células normales y b) células con alteraciones.  
Las imágenes de este capítulo fueron tomadas en los laboratorios de la FQ.

## MORFOLOGÍA DE SERIE BLANCA

### MIELOBLASTO

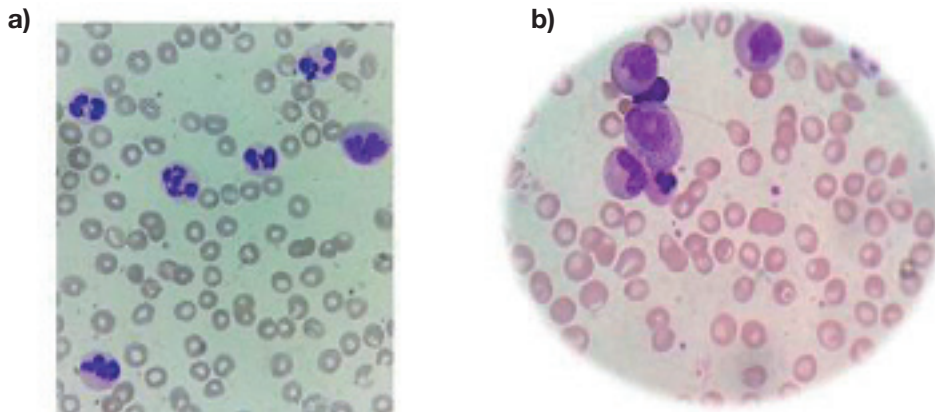
Célula grande (15-20  $\mu\text{m}$ ) con núcleo redondo u oval, cromatina laxa y dos o cinco nucléolos aparentes, citoplasma sin granulaciones, ligeramente basófilo.

### PROMIELOCITO

Célula grande (12-16  $\mu\text{m}$ ) con núcleo redondo de cromatina semidensa. Se aprecia un nucléolo. Citoplasma con abundantes granulaciones azurófilas o primarias.

### MIELOCITO

Célula de menor tamaño que el promielocito (13-18  $\mu\text{m}$ ) con núcleo redondo u oval, una parte presenta una depresión leve o achatamiento. No se aprecian nucléolos y la cromatina condensada, en este estadio aparece la granulación específica: neutrófilo, basófilo o eosinófilos. El citoplasma se observa rosa pardo o marrón.



**Figura 10.2** Células mieloides: a) maduras e b) inmaduras.

### METAMIELOCITO

Célula de citoplasma con granulación específica (12-15  $\mu\text{m}$ ), el tipo más abundante es el metamielocito neutrófilo, cuyo núcleo tiene cromatina condensada y se dispone en forma de herradura, por lo que se dice que tiene forma de riñón o frijol.

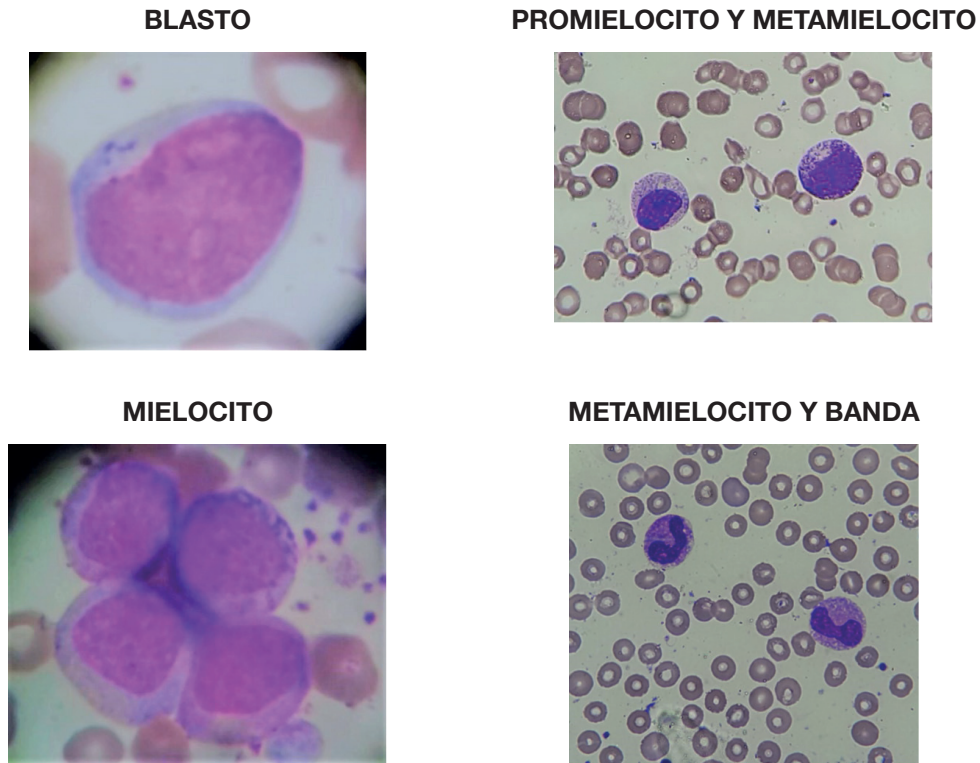


Figura 10.3 Diferenciación mieloide.

### **BANDA**

Célula con granulación específica en el citoplasma (12-14  $\mu\text{m}$ ), el núcleo presenta forma de C o S con un grosor constante en toda su longitud y cromatina compacta.

### **NEUTRÓFILO SEGMENTADO**

Célula con granulación específica en el citoplasma (12-14  $\mu\text{m}$ ), se observa el núcleo lobulado con cromatina compacta. Los lóbulos generalmente son de 3-5 segmentos.

### **EOSINÓFILO**

Célula granulocítica madura caracterizada por la presencia de gránulos acidófilos grandes que poseen refringencia, ya que el contenido del gránulo es de una proteína cristalina. Se observan de dos a tres lóbulos de cromatina.

### **BASÓFILO**

Célula granulocítica madura que presenta gránulos gruesos grandes de color oscuro que no permiten observar la cromatina de la célula, son lábiles, éstos se pueden caer de la célula al ser sometida al enjuague en el chorro de agua.

### **MONOCITO**

Es la célula más grande que se puede observar en sangre periférica (15-22  $\mu\text{m}$ ), la cual contiene un citoplasma abundante y muestra una tonalidad azul-gris. Se puede observar granulación fina en algunos, al igual que en otros se puede observar la presencia de vacuolas. La cromatina es laxa y abundante.

### **LINFOBLASTO**

Célula precursora de la estirpe linfoide que se encuentra en médula ósea, el núcleo tiene un patrón de cromatina fina con uno o más nucléolos. El citoplasma generalmente carece de granulación y es escaso.

### **LINFOCITO**

Leucocito maduro de tamaño variable según el estado de actividad celular y la cantidad de citoplasma (10-20  $\mu\text{m}$ ). El núcleo es usualmente redondo con cromatina condensada que se tiñe intensamente de color morado oscuro. El citoplasma puede verse de color azul claro, en algunos linfocitos se pueden observar la presencia de gránulos en el citoplasma que nos indican que se tratan de linfocitos NK.

### **LINFOCITO ACTIVADO**

Linfocito estimulado por antígeno que exhibe una variedad de características morfológicas. La célula suele ser más grande, tiene una forma irregular, el citoplasma es más basófilo, el núcleo suele ser más alargado, se puede observar remanente nucleolar, el citoplasma tiende a adherirse a los eritrocitos, logrando una imagen muy geométrica.

### **LINFOCITO PLASMOCITOIDE**

Es una etapa intermedia en la transformación a célula plasmática de un linfocito B estimulado por antígeno. La cromatina está menos aglomerada y puede ser visible el nucléolo, el citoplasma es intensamente basófilo.

### **MEGACARIOCITO**

Célula grande que se encuentra dentro de la médula ósea, caracterizada por la presencia de un núcleo grande o múltiple y citoplasma abundante, da origen a las plaquetas en la sangre.

### **PLAQUETA**

Estructuras redondas u ovales en la sangre periférica, su tamaño es variable (1-2  $\mu\text{m}$  de diámetro), pueden en ocasiones observarse presencia de granulación y prolongaciones, así como estar solas o formando grupos. Dependiendo de la patología, pueden ser grandes o incluso gigantes cuando su tamaño es equiparable con el de un eritrocito.



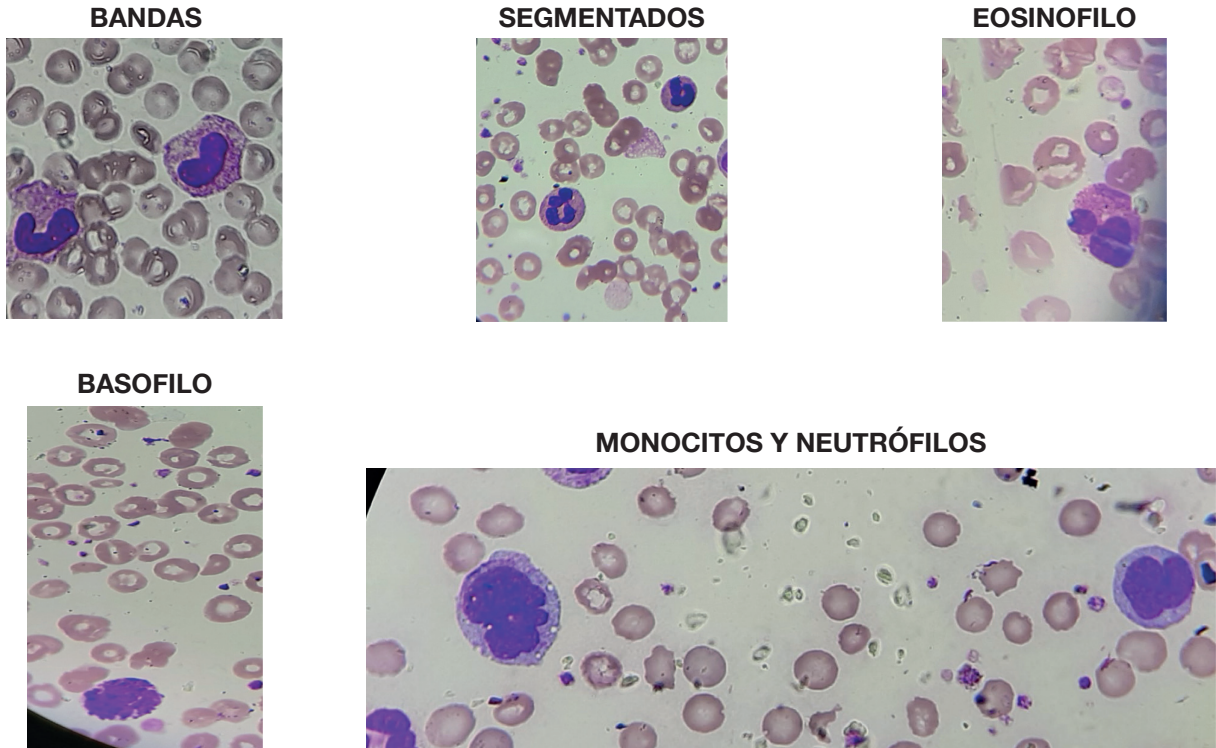


Figura 10.4 Diferenciación mieloide.

#### ALGUNAS ANORMALIDADES DE SERIE BLANCA

##### CUERPOS DE AÜER

Inclusiones que se observan dentro del citoplasma de los neutrófilos o de las células mieloideas que denotan la presencia de una neoplasia. Son el resultado de una fusión anormal de los gránulos citoplásmicos. Por medio de ellos podemos saber que se trata de un problema neoplásico.

##### BLASTO

Célula que presenta abundante cromática laxa, con presencia de nucléolos y escaso citoplasma basófilo que no debe encontrarse en sangre periférica, denota la presencia de una neoplasia (leucemia o síndrome mielodisplásicos).

##### ANOMALÍA DE PELGER-HUET

Presencia de neutrófilos que presentan cromatina bilobulada de manera simétrica.

##### HIPERSEGMENTADOS

Presencia de neutrófilos que presentan más de 5 segmentos de cromatina.

**BIBLIOGRAFÍA**

Vives, J.L. y Aguilar, J.L. *Manual de Técnicas de Laboratorio en Hematología*, 4ª Ed., editorial Masson: España, 2014.

McDonald, G. *et al.* (1989) *Atlas de Hematología*. 5ª edición, Editorial Médico Panamericana: Buenos Aires, Argentina, 2002.

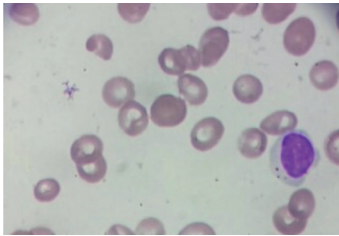
Williams, J. *et al.* *Hematología*, 6ª Ed., editorial Marbán: España, 2005.

# Anexo I

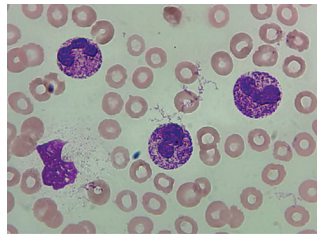
# Imágenes de anomalías de serie blanca\*

\* Las imágenes de este anexo fueron tomadas por la autora en los laboratorios de la FQ.

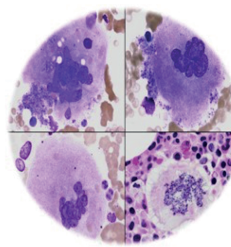
LINFOCITO CON GRANULACIÓN



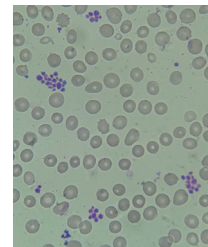
GRANULACIÓN TÓXICA



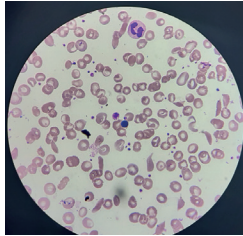
MEGACARIOCITO



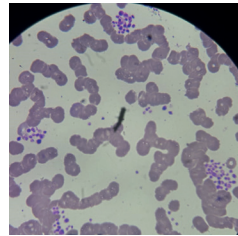
PLAQUETAS



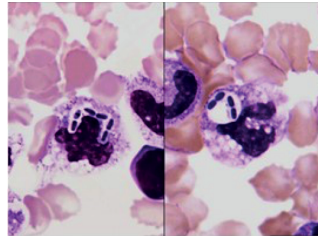
PLAQUETAS GIGANTES



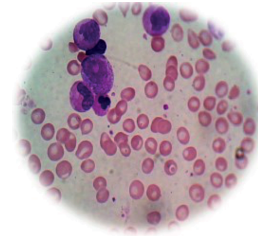
ACÚMULOS PLAQUETARIOS



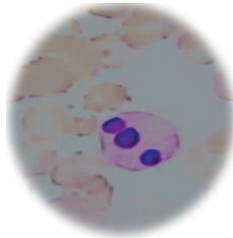
NEUTRÓFILOS CON BACTERIAS



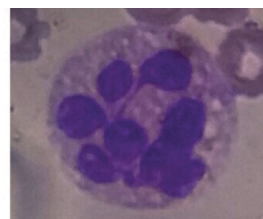
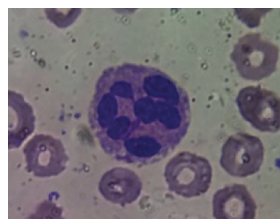
CÉLULAS MIELOIDES



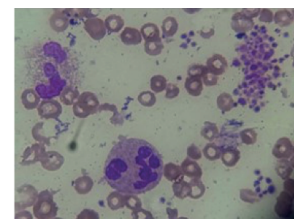
APOPTOSIS



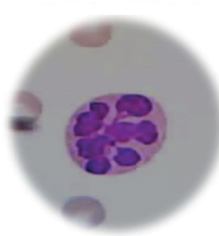
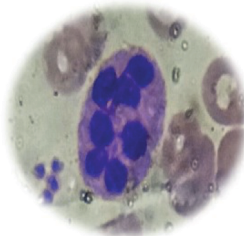
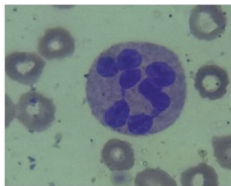
HIPERSEGMENTADO CON VACUOLAS



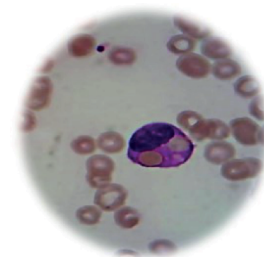
ACÚMULO DE PQ



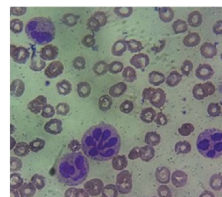
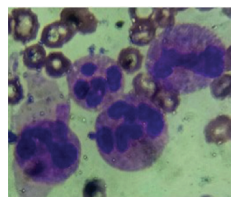
HIPERSEGMENTADO



FAGOCITOSIS



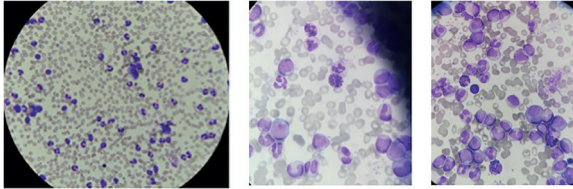
NUTRÓFILOS ALTERADO-DISGRANULOPÓYÉTICOS



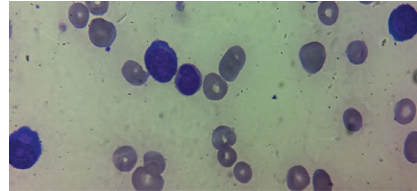
Anexo I

Imágenes de anomalías de serie blanca (continuación)

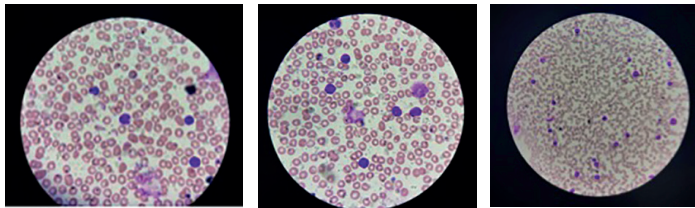
LEUCEMIA GRANULOCÍTICA CRÓNICA



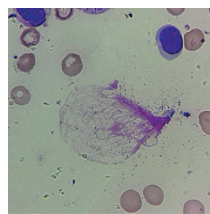
PLASMABLASTOS



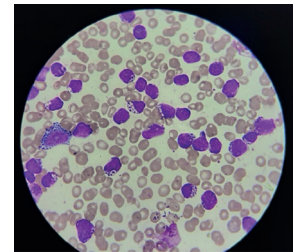
LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÓNICA



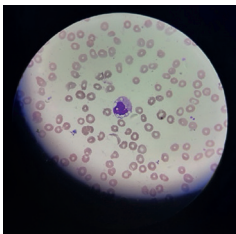
RESTOS CELULARES



BLASTOS CON GRANULACIÓN ESTIRPE LINFOIDE

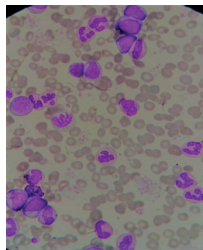


MONOCITO VACUOLADO

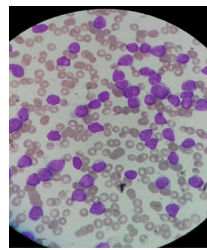


HIPERCELULARIDAD

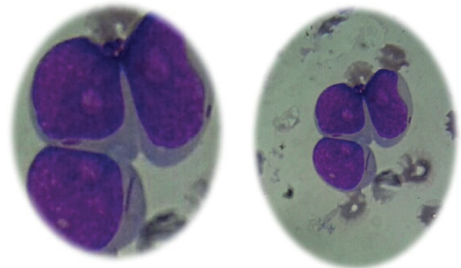
CELULARIDAD HETEROGÉNEA



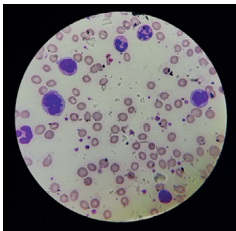
CELULARIDAD HOMOGÉNEA



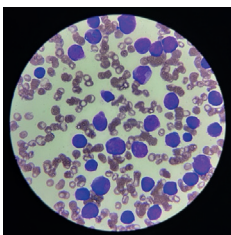
BLASTOS CON AÜER



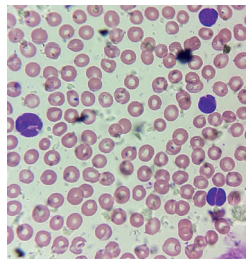
MONOCITOS VACUOLADOS E HIPERSEGMENTADOS



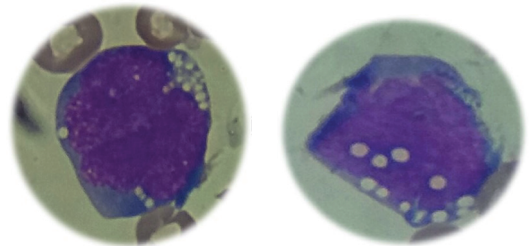
LEUCEMIA M3 BLASTOS DE PROMIELOCITOS



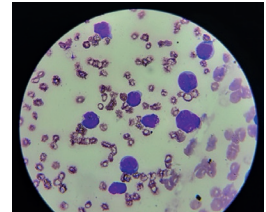
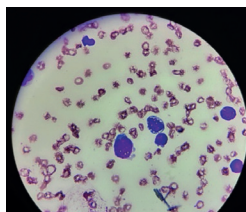
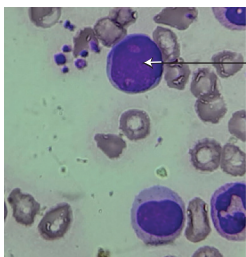
BLASTOS LINFOIDES



BLASTOS VACUOLADOS



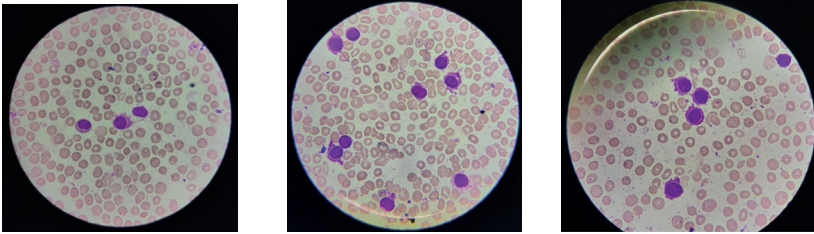
LINFOBLASTO



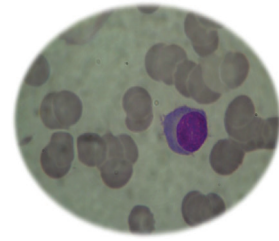
# Anexo I

## Imágenes de anomalías de serie blanca (continuación)

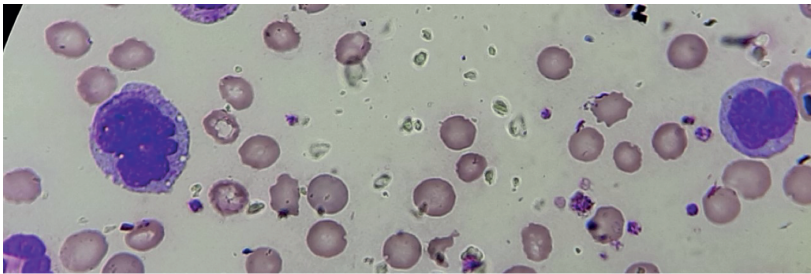
TRICOLEUCEMIA



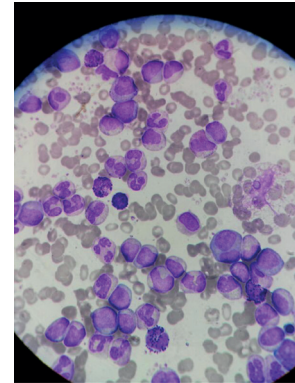
CÉLULA PLASMÁTICA



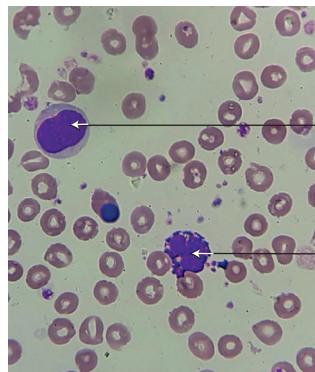
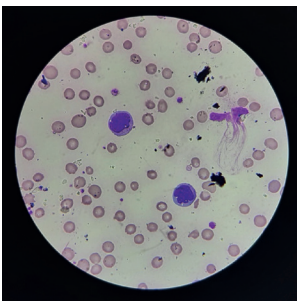
MONOCITOS Y NEUTRÓFILOS



BASÓFILOS



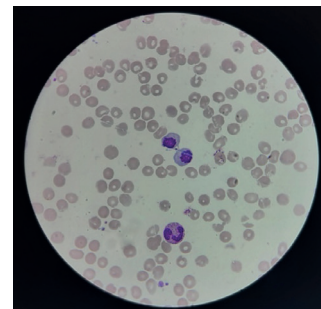
BLASTOS MONOCITOIDES Y RESTOS CELULARES



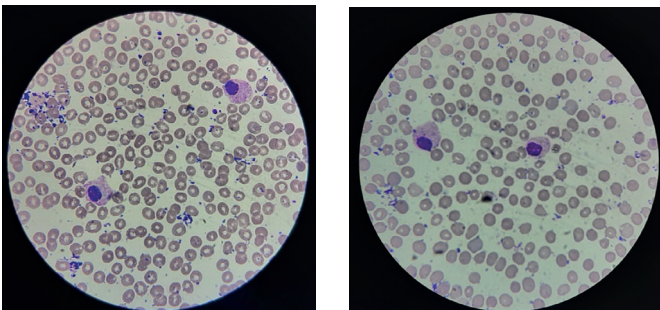
ERITOBLASTO

BASÓFILO

CITOCINESIS



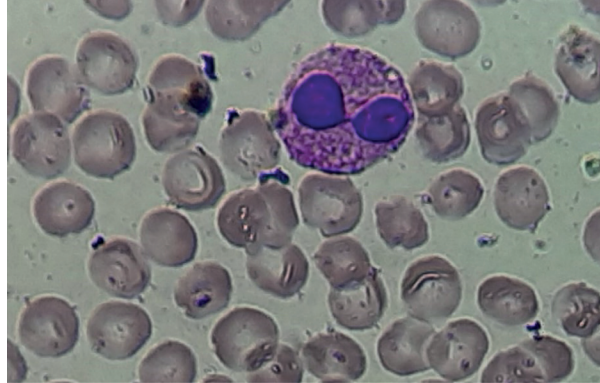
NEUTRÓFILOS HIPOSEGMENTADOS



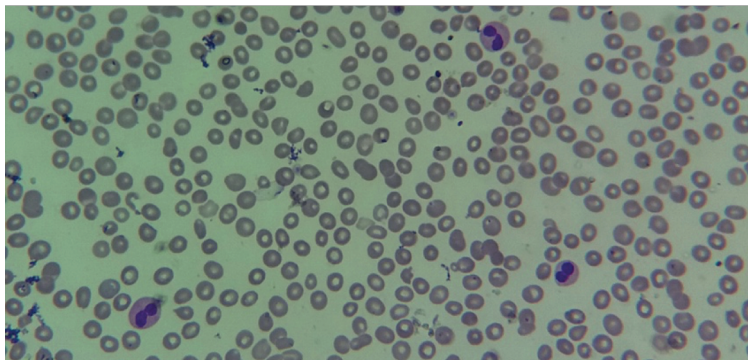
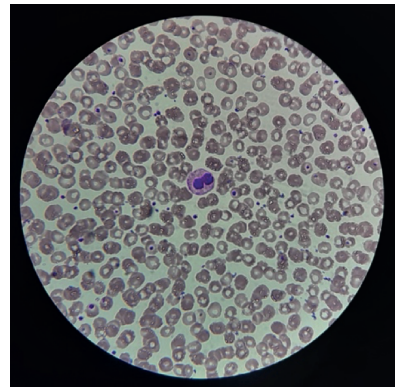
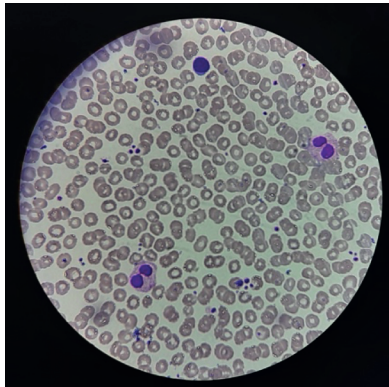
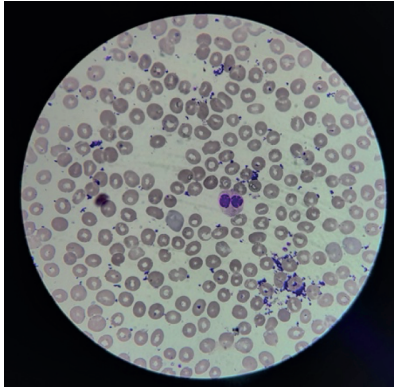
Anexo I

Imágenes de anomalías de serie blanca (*continuación*)

PELGER



NEUTRÓFILOS EN PELGER



## Capítulo 11

# Recomendaciones generales para realizar pruebas de coagulación. Tiempo de sangrado. Tiempo de trombina, tiempo de tromboplastina parcial y fibrinógeno e importancia en la clínica

### OBJETIVOS

1. Realizar una curva de actividad de protrombina vs tiempo.
2. Evaluar el tiempo de protrombina en plasma: normales y patológicos.
3. Analizar el mecanismo de acción de la tromboplastina parcial dentro del fenómeno de la coagulación.
4. Familiarizarse con las precauciones que requiere esta técnica y todas las de coagulación.

### INTRODUCCIÓN

Las pruebas de coagulación se agrupan de acuerdo con la parte del sistema de coagulación que evalúan; hemostasia primaria, hemostasia secundaria y fibrinólisis. El anticoagulante de elección para los estudios de coagulación es el citrato de sodio al 3.8% y la proporción indicada entre el anticoagulante y la sangre entera es 1:9.

#### TIEMPO DE SANGRADO

Esta prueba valora la capacidad hemostática global *in vivo* y consiste en medir el tiempo transcurrido desde la realización de una pequeña incisión cutánea hasta que cesa la hemorragia, la prueba mide el tiempo necesario para obtener un tapón hemostático eficaz y, por lo tanto, representa una valoración global y simultánea de los procesos de adhesión, agregación y liberación plaquetaria. Para que sea un reflejo verdadero de la función plaquetaria, el paciente debe evitar el uso de aspirina o fármacos similares al menos durante 7 días antes de la prueba, de igual manera debe practicarse un conteo de plaquetas, ya que una cifra menor de  $100 \times 10^9/L$  produce una prolongación en el tiempo de sangrado que indica una disfunción plaquetaria. El método original del corte en el lóbulo de la oreja, introducido por Duke en 1910, es poco sensible y menos reproducible, por lo que no es aconsejable usarlo. En 1935, Ivy introdujo la aplicación del esfigmomanómetro para ejercer presión en el brazo y la práctica de la incisión en la cara anterior del antebrazo. Este método es muy sensible.

#### VALORACIÓN GLOBAL DE LA VÍA EXTRÍNSECA (TIEMPO DE PROTROMBINA)

El plasma citrato, en presencia de tromboplastina factor tisular y una mezcla de fosfolípidos y cloruro cálcico, se coagula a una velocidad dependiente de las actividades de la protrombina factor II, de los factores V, VII y X, y el fibrinógeno, siempre que no existan inhibidores de la reacción. Actualmente, las tromboplastinas comerciales se presentan ya mezcladas con el cloruro cálcico. Los resultados se expresan en segundos, es conveniente indicar la marca de la tromboplastina utilizada por la gran variabilidad en la sensibilidad entre los distintos reactivos comerciales. Se consideran valores normales 10-15 segundos.

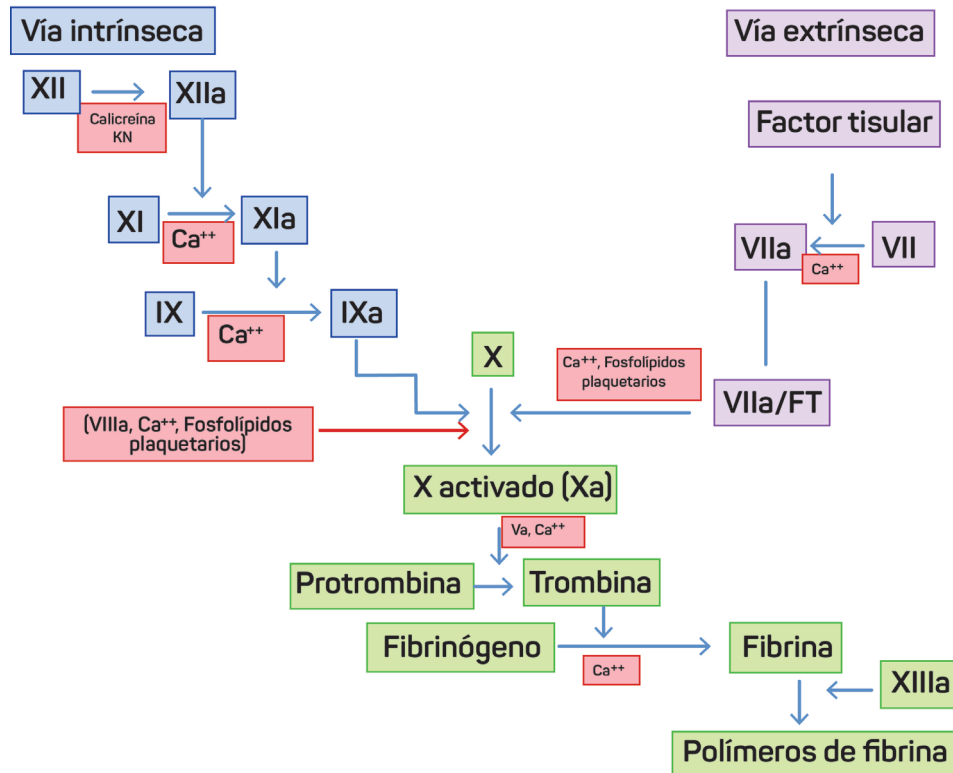


Figura 11.1 Cascada de coagulación.

#### VALORACIÓN GLOBAL DE LA VÍA INTRÍNSECA (TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ACTIVADA, TTPA)

El plasma con citrato coagula en presencia de cefalina (mezcla de fosfolípidos) y cloruro cálcico a una velocidad dependiente de todos los factores de la vía intrínseca, siempre que no existan inhibidores de la reacción. El resultado del tiempo se da en segundos. La prueba es especialmente dependiente de la concentración del factor VII, el TTPA es muy sensible a la presencia de heparina, siendo la prueba más utilizada para el control del tratamiento con este coagulante. Se consideran valores de referencia  $40 \pm 3$  segundos.

## FUNDAMENTO

### TIEMPO DE PROTROMBINA

Cuando el calcio y un extracto de tejido de cerebro (factor II, fosfolípidos y proteínas, que constituyen una tromboplastina completa) son añadidos al plasma, inmediatamente el factor VII reacciona con el factor tisular para formar un complejo, el cual transforma al factor X en su forma activada Xa; éste reacciona con el factor V, calcio y los fosfolípidos presentes en el extracto de tejido para dar origen a la protrombinasa extrínseca, la cual transforma a la protrombina en trombina; ésta convierte al fibrinógeno en fibrina. La velocidad de formación de la fibrina depende de la concentración de los factores V, VII y X, protrombina, fibrinógeno, por



## Capítulo 11. Recomendaciones generales para realizar pruebas de coagulación. Tiempo de sangrado. Tiempo de trombina, tiempo de tromboplastina parcial y fibrinógeno e importancia en la clínica

lo tanto la prueba valora la actividad de la totalidad de estos factores, es decir, los que participan en la vía extrínseca, excepto el factor XIII.

### *TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL*

Mide la actividad intrínseca de la coagulación del plasma. El tiempo requerido para que el plasma recalcificado coagule después de la incubación con fosfolípidos plaquetarios (cefalina) y un activador (caolín) del factor de contacto, es una medida de intensidad con la cual se forma la trombina a través de la vía intrínseca de la coagulación. Esta prueba mide los factores VIII, IX, XII, II, V, X y la conversión de fibrinógeno a fibrina.

### **MATERIAL Y REACTIVOS**

- Plasma citrado pobre en plaquetas
- Tubos de ensayo de 13 x 100 mm
- Tubos de ensayo de 10 x 75 mm
- Pipetas serológicas de 0.1 y 1.0 mL
- Pipetas Pasteur con bulbo
- Gradilla para tubos
- Centrífuga
- Baño de incubación 37 °C
- Citrato de sodio al 3.8%
- Tromboplastina parcial líquida activada
- Cloruro de calcio 0.02 M

### *CONDICIONES DE LA MUESTRA*

Es necesario que la mezcla de anticoagulante y sangre se haga adecuadamente y en la proporción indicada, ya que se deben descartar aquellas muestras donde se observen coágulos pequeños. El plasma deberá separarse inmediatamente del paquete de eritrocitos y ser colocada en hielo.

### **PROCEDIMIENTO**

#### *TIEMPO DE PROTROMBINA*

1. Mantener el plasma en baño de hielo hasta el momento de la determinación. Homogeneizar adecuadamente el reactivo de tromboplastina.
2. Transferir a un tubo de 10 X 75 mm la cantidad de CaCl suficiente para el número de pruebas a efectuar y mantenerlo a una temperatura de 37 °C en el baño de incubación.
3. Adicionar 0.1 mL de plasma a un tubo e incubar durante 2 minutos.
4. Posteriormente, agregar 0.1 mL de tromboplastina activada (previamente incubada durante 10 minutos) y colocar la mezcla en el baño de incubación a 37 °C.
5. Agregar 0.1 mL de CaCl<sub>2</sub> 0.02 M a la mezcla de plasma y tromboplastina y simultáneamente poner en marcha el cronómetro.

## HEMATOLOGÍA EXPERIMENTAL

6. Agitar de inmediato la mezcla y mantenerla en el baño de incubación a 37 °C. Es necesario revisar constantemente la apariencia de la mezcla y para ello se debe contar con una buena iluminación para observar con oportunidad la aparición de los primeros filamentos de fibrina: éste es el momento final de la prueba y se detiene la marcha del cronómetro.

**Tabla 11.1** Curva de actividad.

### CURVA DE ACTIVIDAD

<i>PLASMA NORMAL mL</i>	<i>NaCl 0.85% mL</i>	<i>ACTIVIDAD %</i>
1.0	0.0	100
0.9	0.1	90
0.8	0.2	80
0.7	0.3	70
0.6	0.4	60
0.5	0.5	50
0.4	0.6	40
0.3	0.7	30
0.2	0.8	20
0.1	0.9	10

Con cada una de las diluciones continuar a partir del punto 6 de la técnica. Graficar los valores obtenidos del tiempo en segundos contra la actividad en %. Utilizar papel milimétrico.

### TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ACTIVADA

1. Adicionar a un tubo de ensayo de 10 x 15 mm 0.1 mL de tromboplastina parcial líquida activada e incubarlo a 37 °C durante 2 minutos.
2. Trascurridos los dos minutos, agregar 0.1 mL de plasma, mezclar perfectamente e incubar a 37 °C por dos minutos.
3. Agregar 0.1 mL de CaCl 0.02 M a 37 °C y simultáneamente poner en funcionamiento el cronómetro, incubar a los 20 segundos, observar con cuidado el tubo de la prueba, haciendo resbalar el contenido por la pared, hasta la aparición de los primeros hilos de fibrina. En este momento detener el funcionamiento del cronómetro. La observación debe hacerse con mucha rapidez metiendo y sacando el tubo del baño de agua.

## CÁLCULOS Y RESULTADOS

### TIEMPO DE PROTROMBINA

Los resultados expresan tiempo en segundos, o bien, % de actividad. Un tiempo prolongado (% actividad bajo, menor al 60%) indicará la deficiencia de uno o más de los siguientes factores:

- Factor I fibrinógeno
- Factor II protrombina
- Factor V proacelerina, factor lábil
- Factor VII proconvertina, factor estable
- Factor X factor de Stuart-Prower

### TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ACTIVADA

La prolongación anormal indica deficiencia intrínseca de un factor o presencia de un inhibidor. Sólo el factor VII no está incluido en el tiempo de tromboplastina parcial. Detecta deficiencias importantes de los factores VIII, IX, XII o presencia de inhibidores (anticoagulantes circulantes) como la heparina, anticuerpos dirigidos contra el factor VIII o IX.

## VALORES DE REFERENCIA

TP	10-15 segundos, actividad mayor del 60%
TTPA	40±3 segundos

## BIBLIOGRAFÍA

Vives, J.L. y Aguilar, J.L. *Manual de Técnicas de Laboratorio en Hematología*, 4ª Ed., editorial Masson: España, 2014.

Williams, J. *et al. Hematología*, 6ª Ed., editorial Marbán: España, 2005.



## ANEXO II

# Valores de referencia en adultos-biometría hemática

<i>PLASMA NORMAL mL</i>	<i>NaCl 0.85 % mL</i>
<i>Parámetro</i>	<i>Unidades</i>
<i>Eritrocitos</i>	3.9 - 5.6 X 10 <sup>12</sup> / L
<i>Mujeres</i>	4.5 - 6.5 X 10 <sup>12</sup> /L
<i>Hombres</i>	
<i>Hematocrito</i>	0.36 - 0.47
<i>Mujeres</i>	0.40 - 0.54
<i>Hombres</i>	
<i>Hemoglobina</i>	11.5 - 16.4 g/dL
<i>Mujeres</i>	13.5 - 18.0 g/dL
<i>Hombres</i>	
<i>Volumen corpuscular medio para hombres y mujeres</i>	89+9 fl
<i>Hb corpuscular media para hombres y mujeres</i>	27 - 31 pg
<i>Concentración corpuscular media de hemoglobina Para hombres y mujeres</i>	32 - 36%
<i>Reticulocitos para hombres y mujeres</i>	0.2 - 2.0%
<i>RDW para hombres y mujeres</i>	11.5 - 15.0%
<i>Plaquetas para hombres y mujeres</i>	150 - 450 X 10 <sup>9</sup> / L
<i>Leucocitos para hombres y mujeres</i>	4.0 - 10.0 X 10 <sup>9</sup> / L
<i>Neutrófilos segmentados para hombres y mujeres</i>	50 - 70%

## ANEXO II

## Valores de referencia en adultos-biometría hemática (*continuación*)

<i>PLASMA NORMAL mL</i>	<i>NaCl 0.85 % mL</i>
<i>Eosinófilos para hombres y mujeres</i>	1 - 3%
<i>Basófilos para hombres y mujeres</i>	0 - 1%
<i>Linfocitos para hombres y mujeres</i>	20 - 40%
<i>Monocitos para hombres y mujeres</i>	4 - 10%

### RECuento DIFERENCIAL DE LEUCOCITOS EN ADULTOS PARA AMBOS SEXOS

<i>Parámetro</i>	<i>Relativo</i>	<i>Absoluto por 7000 leucocitos</i>
<i>Neutrófilos</i>	40 - 75%	2800 - 5250
<i>Linfocitos</i>	20 - 45%	1400 - 3150
<i>Monocitos</i>	2 - 10%	140 - 700
<i>Eosinófilos</i>	1 - 3%	70 - 420
<i>Basófilos</i>	< 1%	0 - 70

*Hematología experimental* es una obra editada por la Facultad de Química.

La publicación de esta obra fue posible gracias al apoyo  
de la Coordinación de Comunicación,  
a través del Departamento Editorial.

El cuidado de la edición estuvo a cargo de  
M en C Brenda Álvarez Carreño  
Diseño de portada: DG Norma Castillo Velásquez.  
Diseño de interiores: Maricela Hernández Casasola.

Publicación autorizada por el Comité Editorial  
de la Facultad de Química  
Julio de 2021

# Hematología

Las prácticas que se incluyen en esta obra tienen como objetivo familiarizar a los alumnos interesados en la hematología con el manejo de muestras y sus respectivas técnicas, esto les permitirá estudiar de una manera más adecuada su comportamiento y así entender los resultados obtenidos en las diferentes pruebas que se sugieren realizar para dar un resultado que respalde el diagnóstico del paciente y apoyar al equipo de salud involucrado.

Cada uno de los capítulos se ha elaborado de manera que se acerquen lo más posible a la realidad con la que se trabaja en el laboratorio, destacando la importancia que tiene el buen manejo de la muestra para entender los resultados que se obtengan.

A lo largo de su trayectoria, la autora ha comprobado la importancia que tiene la constante actualización del personal del laboratorio dedicado a la hematología, así como un gusto especial por la observación de las células sanguíneas, el conocimiento de su funcionamiento y características, ya que de esto depende la óptima interpretación de las pruebas.

