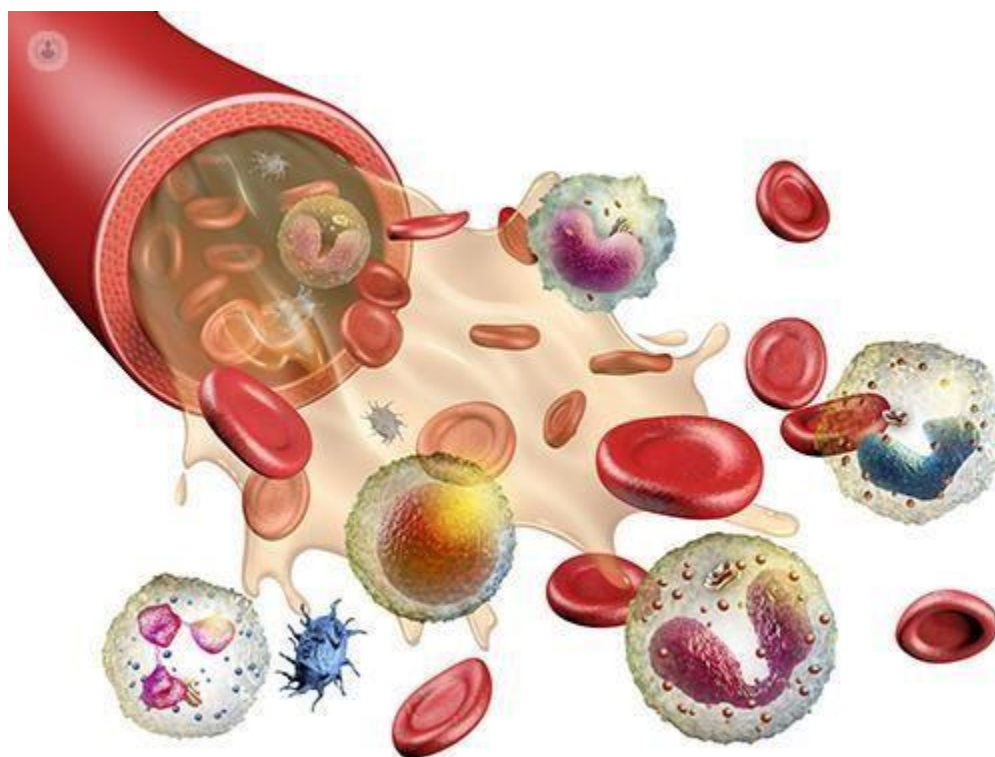




INSTRUCTIVO DE PRACTICAS DE LABORATORIO DE ANALISIS HEMATOLOGICOS



Elaborado por:

Esp. Odont. Angélica Cadena Ríos
Q.F.B. Maribel Cadena Ríos
Q.F.B. Erasmo Palafox Moedano
Q.B.P. Gabriela Arias Citalan



INSTRUCTIVO DE PRÁCTICAS

ANÁLISIS HEMATOLÓGICOS

PROFESOR TITULAR: _____

PROFESOR (ES) DE LABORATORIO:

NOMBRE DEL ALUMNO:

No. DE BOLETA: _____ GRUPO: _____ EQUIPO No.: _____

CICLO ESCOLAR: _____

ELABORADO POR	REVISADO POR	APROBADO POR	AUTORIZADO POR
Esp. Odont. Angélica Cadena R. Q.F.B. Maribel Cadena R. Q.F.B. Erasmo Palafox Moedano Q.B.P Gabriela Arias Citalan	M. en E. Gil Moisés López Iñiguez	M en E Arquímedes Ramos Palma	Ing. Norma Lorena Báez Contreras
Docentes	Presidente de Academia	Jefe de Área Académica	Director del C E C y T No. 15 “DAE”



**LINEAMIENTOS DE TRABAJO PARA LOS LABORATORIO DE LAS UNIDADES DE
APRENDIZAJE DE LA CARRERA DE TÉCNICO LABORATORISTA CLÍNICO (TLC).**

Objetivo: Desarrollar el trabajo académico en las Unidades Aprendizaje de la carrera de Técnico Laboratorista Clínico en un ambiente incluyente e igualitario en aras de una cultura de paz y justicia, durante las sesiones de trabajo teórico y práctico con base a los siguientes lineamientos:

1. Podrán realizar las prácticas los estudiantes que estén inscritos oficialmente o con la autorización del profesor titular, (**Reglamento Interno del IPN; Título Tercero, Capítulo 1, Art. 77 y Reglamento General de estudios; Art. 36 apartado I**)
2. Se impartirá una sesión por semana a cada grupo, tomándose la asistencia al inicio de cada una de ellas con un margen de tolerancia de cinco minutos después de la hora señalada para ingresar al laboratorio, (**Código de Ética del IPN, Capítulo IV.2 apartado 1 y Reglamento Interno del IPN, Sección Séptima, Título Tercero, Capítulo VI**).
3. Es obligación de las alumnas y alumnos asistir con puntualidad y constancia a sus clases, la academia acuerda que la asistencia se registrará al inicio de cada sesión, dando como tolerancia de ingreso lo enunciado en el punto 2 de estos lineamientos, (**Reglamento Interno del IPN, Sección Séptima, Título Tercero, Capítulo VI**).
4. Cuando todo el grupo deje de asistir a alguna práctica y no exista causa justificada oficialmente, esta se dará por vista registrándose como No Presentada y podrá ser tema de cualquier evaluación, (**Código de Ética del IPN, Capítulo IV.2 apartado 1 y Reglamento Interno del IPN, Sección Séptima, Título Tercero, Capítulo VI**
5. Solo podrán ser justificadas las inasistencias mediante el justificante oficial emitido por la Institución, práctica no realizada se calificará con cero, ya que, si no se realiza una práctica, no se puede evaluar, (**Reglamento Interno del IPN, Sección Séptima, Título Tercero, Capítulo VI**).
6. Para garantizar espacios confiables y seguros, la entrada al laboratorio será con bata blanca de manga larga, vestida correcta y perfectamente abotonada; la cual se deberán quitar al salir de laboratorio, (**Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de la OMS y NOM-017-STPS- 2008**).
7. Para salvaguardar la integridad física de alumnas, alumnos, profesoras y profesores se requiere que ingresen con zapatos cerrados, cabello recogido, uñas cortadas y sin esmalte, (**Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de la OMS y NOM-017-STPS-2008**).
8. Entre las buenas prácticas de laboratorio se indican: no comer, beber, fumar y aplicar cosméticos dentro del laboratorio, (**Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de la OMS, Capítulo 3; apartado de Código de Prácticas y Protección Personal**).
9. Cada alumno deberá trabajar durante todo el curso en el equipo y mesa de trabajo asignado al inicio de este, salvo que los profesores lo cambien para mejorar su atención, (**Código de Ética del IPN, Capítulo IV.2 apartado 1**).
10. Es necesario que los alumnos guarden orden, disciplina y atención durante la estancia en el laboratorio para prevenir accidentes y daños al equipo, (**Código de Ética del IPN, Capítulo IV.2 apartado 1 y Reglamento Interno del IPN, Sección Séptima, Título Tercero, Capítulo VI**).



11. Para evitar retraso durante el desarrollo de la práctica a realizar, los alumnos y alumnas deberán estudiarla cuidadosamente antes de ingresar al laboratorio, de esta forma se promueve la adquisición de conocimientos y se resolverán las actividades previas indicadas por los y las profesoras, (**Código de Ética del IPN, Capítulo IV.2 apartado 1**).
12. **ESTA PROHIBIDO EL USO DE TELEFONO CELULAR O IPAD DENTRO DE LOS LABORATORIOS DEBIDO AL RUESGO DE INFECCION.** En caso de incurrir en este punto la práctica se evaluará con cero. (**Código de Ética del IPN, Capitulo IV.1 apartado 2 y NOM-007-SSA3-2011 apartado 5.1.1**), A menos que el profesor lo autorice.
13. Con base a lo establecido en la **NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002**, los RPBI generados (no anatómicos, punzocortantes, cultivos y cepas.) durante el desarrollo de la práctica deberán separarse y depositarse en las bolsas rojas y contenedores indicados.
14. Los residuos sólidos urbanos deberán separarse y depositarse en los botes colocados debajo de cada mesa y no en las tarjas cónicas de las mismas ni en los contenedores indicados para RPBI, (**NADF-024-AMBT-2013**).
15. El material que se utiliza en la práctica deberá quedar en el lugar que se indique y perfectamente limpio y seco. (**Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de la OMS**).
16. La entrega del informe práctico se hará conforme lo acuerden los profesores de cada Unidad de Aprendizaje, después de la fecha indicada no se recibirá, (**Código de Ética del IPN, Capitulo IV.1 apartado 2 y Reglamento Interno del IPN, Sección Séptima, Título Cuarto, Capítulo I**).
17. Para tener derecho a presentar el examen ordinario “C”, será requisito indispensable tener mínimo el 80% de asistencias y prácticas realizadas, (si no se justifican las inasistencias); si se tiene menos del porcentaje indicado para poder acreditar el curso, se deberá presentar una evaluación extraordinaria o ETS, los cuales serán teórico-prácticos, los cuales incluirán los contenidos del programa de estudios correspondiente, (**Reglamento general de estudios del IPN, capítulo sexto, artículos 45 y 48**).
18. El programa de estudios de la carrera de **Técnico Laboratorista Clínico** está conformado por Unidades de Aprendizaje Teórico – Prácticas, por tal motivo del **100 %** de la evaluación el **40 %** comprende la parte teórica y un **50%** la parte práctica, así mismo se incluye la evaluación del Proyecto Aula, al cual se le asigna un 10 % en los parciales A y B, en el parcial C la ponderación del proyecto aula será del 20 %, realizando los ajustes correspondientes a la parte práctica, (**Reglamento de Academias del IPN, Capítulo I, Art. 3 y Capítulo II Art. 7**).
19. Para tener derecho a presentar el examen extraordinario “será requisito indispensable tener mínimo el 80% de asistencias y prácticas realizadas, menos del 80% deberá presentar ETS.
20. Aquellos alumnos que consideren traen los conocimientos teóricos y prácticos de la asignatura a cursar deberán solicitar la aplicación de la evaluación de saberes previamente adquiridos, si así lo desean(**Art. 47 del Reglamento General de Estudios**)



EVALUACIÓN

Departamental A y B		
APARTADO	ACTIVIDAD	VALOR %
LABORATORIO 50 %	Evaluación diagnóstica	5
	Informe de practica	10
	Trabajo de laboratorio	5
	Examen práctico	30
Departamental C		
LABORATORIO 40 %	Evaluación Diagnóstica	5
	Informe de prácticas	10
	Trabajo de laboratorio	5
	Examen práctico	20
TOTAL DE LABORATORIO		50% 40%

- Debido a los ajustes presupuestales relacionados con la aplicación de exámenes, las evaluaciones podrán realizarse bajo cualquiera de las siguientes modalidades, de acuerdo con el criterio académico del docente responsable:
 - Exámenes en línea mediante plataformas institucionales o autorizadas.
 - Exámenes presenciales en formato físico.
 - Evaluaciones orales individuales o grupales.
 - Actividades integradoras, estudios de caso, prácticas, reportes o exposiciones.
 - Cualquier otra modalidad que el docente considere pertinente para valorar el logro de los aprendizajes.

La modalidad elegida por cada docente deberá ser respetada por el alumnado.

- Todos los estudiantes deberán conducirse con honestidad académica durante el desarrollo de las evaluaciones y actividades de la asignatura, Se considerarán conductas indebidas:
 - Copiar respuestas de otros estudiantes.
 - Compartir respuestas durante o después de una evaluación.



- Tomar fotografías, capturas de pantalla o grabaciones de exámenes, reactivos, rúbricas o materiales de evaluación sin autorización.
- Difundir, vender, intercambiar o publicar exámenes o evidencias de evaluación por cualquier medio físico o digital.
- Utilizar herramientas de inteligencia artificial para responder evaluaciones

El estudiante que sea sorprendido incurriendo en los puntos anteriores deriva en la anulación de la evaluación correspondiente y en la aplicación de la normatividad institucional vigente.

3. Durante las evaluaciones, el docente podrá restringir o supervisar el uso de dispositivos y materiales. Queda prohibido el uso de:

- Lentes inteligentes o dispositivos electrónicos con capacidad de grabación, transmisión o consulta de información.
- Plumas, relojes, audífonos u otros accesorios con funciones de almacenamiento, comunicación o apoyo mediante inteligencia artificial.
- Teléfonos celulares, tabletas u otros dispositivos no autorizados.

La detección del uso de cualquiera de estos medios derivará en la anulación de la evaluación correspondiente y en la aplicación de la normatividad institucional vigente.

4. El docente podrá solicitar la identificación del estudiante durante evaluaciones en línea.

5. Las evaluaciones podrán ser monitoreadas conforme a los lineamientos institucionales.

CRITERIOS PARA LA ENTREGA DE RESULTADOS

- Los resultados se entregarán de manera individual, exclusivamente en la hoja que se encuentra en el anexo del instructivo
- Se evaluará solo uno y la calificación será para todo el equipo
- Quien no entregue o este incompleto se evaluará con cero o se restará puntaje
- La entrega será en un folder de color rojo llevar etiqueta con los siguientes datos: Nombre de la asignatura, Grupo, No. Equipo y nombre completo empezando por apellido y forrado con plástico
 - Se tomará en cuenta presentación, limpieza, ortografía y redacción, entregando en el laboratorio al momento que el profesor lo indique
- Por equipo deberán elaborar una rúbrica para la toma de muestra que contemple nombre del integrante que tomará la muestra, paciente, fecha y firma del docente para los 3 departamentales

El informe incluye:

Resultados con cálculos, gráficos si así lo requiere, tablas o esquema grupal	2 %
Análisis de resultados	3 %
Conclusiones	3 %
Cuestionario	2 %
Fuente referencial estilo de publicación APA si no se presenta, NO se evalúa la práctica	S/V
TOTAL DEL INFORME	10 %



Cronograma de Prácticas de Laboratorio de Análisis Hematológicos Ciclo Escolar 2026-2027-I

No. SEMANA	FECHAS	NOMBRE DE PRACTICA
2	31 agosto al 4 septiembre	Toma de muestra sanguínea venosa y capilar Anticoagulantes y morfología
3	7 al 11 septiembre	Hemoglobina y Hematocrito e Índices Hemáticos
4	14 al 18 septiembre	Reticulocitos y VSG
5	21 al 25 septiembre	EXAMEN
6	28 septiembre al 2 octubre	Revisión de evaluaciones 1er periodo Examen 51M5 y 51M7
7	5 al 9 octubre	Cuenta Total de Leucocitos
8	12 al 16 octubre	Características morfológicas y tintoriales de los Leucocitos.
9	19 al 23 octubre	Cuenta diferencial de Leucocitos y sus valores absolutos.
10	26 al 30 octubre	Citología Hemática (Fórmula roja y blanca)
11	3 y 4 noviembre	EXAMEN y revisión de evaluaciones 2o periodo
12	9 al 13 noviembre	Cuenta de Plaquetas
13	16 al 20 noviembre	Determinación del Tiempo de Protrombina (TP) y del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPa)
14	23 a 27 noviembre	Determinación del Tiempo de Sangrado, Tiempo de Coagulación y Prueba del torniquete
15	30 noviembre a 4 diciembre	EXAMEN
16	7 a 11 diciembre	Revisión de evaluaciones 3 er periodo
17	14 a 28 diciembre	EXTRAORDINARIO



ÍNDICE DE PRÁCTICAS

No. Práctica	Nombre	Pagina
1.	Toma de muestra con diferentes Anticoagulantes	1
2.	Tinción y características morfológicas de los eritrocitos	7
3.	Determinación de hemoglobina, hematocrito e Índices hemáticos	12
4.	Recuento de Reticulocitos y determinación de Velocidad de sedimentación globular	20

EXAMEN PRÁCTICO A

5.	Leucopoyesis y morfología de los leucocitos	25
6.	Cuenta total de Leucocitos	28
7.	Cuenta diferencial	32
8.	Citometría hemática	38

EXAMEN PRÁCTICO B

9.	Reconocimiento de algunas características morfológicas de células inmaduras en sangre periférica.	40
10.	Cuenta de plaquetas.	46
11.	Tiempo de sangrado	49
12.	Tiempo de coagulación.	52

EXAMEN PRÁCTICO C



PRÁCTICA NO. 1 TOMA DE MUESTRA CON DIFERENTES ANTICOAGULANTES.

APRENDIZAJE ESPERADO: Identifica los anticoagulantes de uso en el laboratorio clínico, de acuerdo al estudio a realizar, como punto importante en la toma de muestra.

INTRODUCCIÓN:

La sangre es una suspensión de eritrocitos, leucocitos y plaquetas en un líquido de compleja composición, llamado plasma. Al impedirse el mecanismo de coagulación sanguínea pueden separarse los elementos formes de este líquido, el cual tiene un color paja claro. Cuando la sangre se coagula se obtiene otro líquido al separar el coágulo formado, a este líquido se le llama suero, el cual es de composición diferente al plasma. La diferencia entre estos dos líquidos obtenidos de la sangre radica en su composición, pues al inhibir la coagulación de la sangre se conserva el fibrinógeno en el plasma, mientras que el suero carece del mismo por su transformación a filamentos insolubles de fibrina por la activación de proteínas coagulantes durante la hemostasia.

En condiciones naturales la sangre tiene la propiedad de coagular una vez que sale del cuerpo a través de heridas, con el fin de propiciar la formación de un coágulo formando un tapón que impida los derrames o salidas excesivas de sangre. Este tapón, se forma aproximadamente de 10-15 segundos del contacto entre la sangre y el aire y es formado por un complejo sistema llamado cascada de coagulación. En condiciones de laboratorio, se consigue impedir el proceso de coagulación incorporando, en la sangre extraída mediante una venopunción, una sustancia líquida o liofilizada llamada anticoagulante. Los anticoagulantes son sustancias químicas que impiden o retrasan la coagulación de la sangre de manera que facilitan además de la manipulación, el fraccionamiento de la sangre y el análisis de la muestra. Las características básicas de los anticoagulantes son:

- No alterar el tamaño de los hematíes
- No producir hemólisis
- Evitar al máximo la agregación plaquetaria
- No alterar la morfología de los leucocitos
- Conservar la muestra

Los anticoagulantes más comúnmente usados en la toma de muestras de sangre para distintos análisis y técnicas de laboratorio son los siguientes:

1. EDTA
2. HEPARINA
3. CITRATO
4. Otros anticoagulantes con CITRATO: ACD, CPD, CPDA

Estos anticoagulantes se añaden a los tubos donde se recolecta la sangre, y cada anticoagulante se reconoce por el color de los tapones del tubo.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO DE ESTUDIOS CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS
NO. 15
“DIÓDORO ANTÚNEZ ECHEGARAY “



Orden de Toma			
Tapón	Contenido de tubo	Área de uso	Inversiones
	Hemocultivo	Microbiología	5 veces
	Citrato de sodio	Coagulación (Tiempos de coagulación fibrinógeno, agregación plaquetaria)	3 a 4 veces
	Gel separador	Química clínica	5 veces
	Sin anticoagulante, con activador de coagulación, con silicón	Química clínica, banco de sangre serología	8 a 10 veces
	Gel separador y trombina	Obtención de suero rápido	5 a 6 veces
	Gel separador y heparina de litio	Química clínica en plasma	5 veces
	Heparina de sodio/litio	Química clínica (urgencias) hematología (fragilidad osmótica)	8 a 10 veces
	EDTA K ₂	Hematología, banco de sangre	8 a 10 veces
	Gel separador y EDTA K ₂	Determinaciones de carga viral	8 a 10 veces
	Oxalato de Potasio/NaF	Química clínica, pruebas de lactato y glucosa	8 veces

La tabla 1 nos muestra los principales anticoagulantes empleados en el laboratorio clínico con relación al color del tapón del tubo para su fácil identificación.

Instrumentos para recolección de muestra sanguínea.

Un flebotomista debe mantener buena salud e higiene personal, con su ropa, cabello y uñas.

Torniquete

Se emplea como barrera contra el flujo de sangre venosa, con el objetivo de visualizar una vena con mayor facilidad. Puede ser una tira o manguera de látex, una correa de velcro o bandas ajustables. En la actualidad existen una gran variedad de formas para los torniquetes, las cuales dan una mejor presentación, pero sobre todo mayor comodidad tanto para el paciente como para el flebotomista.

Solución para la asepsia de la piel

La solución aséptica más común es el alcohol isopropílico al 70%. Debe aplicarse con torundas empapadas de esta solución. Pueden emplearse también soluciones de etanol al 70% (ya no es recomendable), cloruro de benzalconio (cloruro de zefirán) o soluciones antisépticas comerciales.



Jeringas

Son sistemas integrados por un cilindro graduado en mililitros, un émbolo y una aguja con punta en un solo extremo y una base para montarse en el cilindro de la jeringa (Figura No. 4). Las agujas para jeringa son de toma única. Deben emplearse en la extracción de sangre en pacientes pediátricos, geriátricos o en caso de pacientes con venas frágiles o diminutas que no puedan resistir la presión negativa del sistema al vacío.



Fig. No. 1 Jeringas.

Sistema al vacío

1. **Agujas:** Son estériles y presentan varias longitudes y anchos (calibre o apertura). Diseñadas para encajar en el sistema de sujeción del tubo al vacío mediante una rosca. Son consideradas de toma múltiple por el capuchón de goma en el extremo posterior al bisel para impedir la salida de sangre. Calibre para adultos: 21, longitud de 1 pulgada (2.4 cm). Ejemplos de agujas, son la aguja Eclipse Blood Collection Needle (BD) y el dispositivo Vacu-Pro Venipuncture Needle Protection Device (Concord Portex).
2. **Dispositivo de sostén:** Son bases plásticas diseñadas para sujetar las agujas, son desechables y de uso único, pero pueden limpiarse sumergiéndose en solución de lavandina al 10%. Ejemplos: sostén BD Pronto Quick Release Needle Holder, dispositivo Safety-Lok Needle Holder (BD) y Saf-T Clic (Winfield Medical).
3. **Tubos al vacío:** Son de plástico o vidrio, contienen una cantidad preestablecida de un aditivo sellado al vacío. El vacío corresponde al volumen indicado en la etiqueta. Por lo general están recubiertos con silicona para disminuir las posibilidades de hemólisis. Estos tubos se manejan por código de colores en el tapón, el cual depende del aditivo que contiene en su interior, en la

Tabla No. 1 se muestra el color del tapón y el aditivo que contienen los tubos más empleados en Hematología.

4. Equipos de infusión alados (mariposas = butterflies) Dispositivos intravenosos que presentan una aguja corta y una sonda delgada con alas plásticas adheribles. Pueden conectarse a los dispositivos de sostén Vacutainer, jeringas o frascos para hemocultivo con adaptadores especiales. Son empleados en la toma de muestra de niños o pacientes internados difíciles de extraerles sangre.



Fig. 2 Elementos empleados en los sistemas al vacío.

FUNDAMENTO:

Los resultados de un examen de laboratorio como toda prueba analítica consiste de tres etapas; pre analítica, analítica y postanalítica, por lo tanto la etapa pre analítica es la de mayor importancia pues de la calidad de la muestra, dependerá el resultado final del examen realizado. Para que el resultado de un examen sea idealmente significativo, el espécimen de sangre debe reflejar el estado fisiológico del paciente en el momento de la recolección. La exactitud y precisión de los datos de un laboratorio dependen fundamentalmente de la calidad del espécimen

MATERIAL:

- Gradilla
- Tubos al vacío con diferentes anticoagulantes
- Torniquete (ligadura)
- Aguja para toma múltiple (Vacutainer)
- Soporte para el sistema Vacutainer
- Torundas de algodón humedecidas en isopropanol al 70 %



DESARROLLO:

1. Obtención de sangre venosa con diferentes anticoagulantes

TRABAJO DEL ALUMNO:

1. Realizar la punción venosa de acuerdo al procedimiento con sistema al vacío centrifugar los tubos y observar las muestras obtenidas en los diferentes tubos con anticoagulantes o aditivos.

RESULTADOS: Registra en una tabla los esquemas de las muestras con diferentes anticoagulantes y observa las fases.

Codigo de color	Tipo de anticoagulante	Formula quimica	Cómo inhibe la coagulación	Muestra que se obtiene	Area de uso



INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

CUESTIONARIO

1. ¿Cuál es el orden para tomar muestra si vas a ocupar varios tubos?
2. ¿Por qué la cantidad de anticoagulante debe ser proporcional a la cantidad de sangre?
3. ¿Cuál es la diferencia entre suero y plasma?
4. ¿Cuáles son las muestras que se requieren para trabajar en el laboratorio de análisis hematológicos?
5. ¿Cuáles son los componentes de la sangre total?

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



Clave: AH-P2	Revisión: Julio 2023	Fecha de emisión: Agosto 2023	Página: 7 de 59
--------------	----------------------	-------------------------------	-----------------

PRÁCTICA NO. 2 TINCIÓN Y CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LOS ERITROCITOS

APRENDIZAJE ESPERADO:

Describe las características morfofisiológicas normales para la identificación de las anomalías de los eritrocitos mediante técnicas de laboratorio

INTRODUCCIÓN:

El frotis de sangre periférica es un examen para el diagnóstico hematológico que conduce a imágenes microscópicas, en las que se encuentran tres tipos de células en un individuo normal: leucocitos, eritrocitos y plaquetas. **Los eritrocitos** representan alrededor del 45% del volumen de la sangre y la variación en su forma, tamaño y textura puede estar asociada a la presencia de diversas enfermedades. Bajo el microscopio, los eritrocitos normales (normocitos) se pueden observar como estructuras altamente circulares cuyo diámetro oscila entre 7 y 9 μm , con una palidez central que refleja su forma de disco bicóncavo. Cualquier variación en estas características debe considerarse anormal, pues podría indicar la existencia de algún tipo de patología, que puede ir desde úlcera péptica y deficiencias patológicas y renales, hasta diferentes tipos de cáncer, entre muchas otras. Por esta razón, los expertos basan el diagnóstico hematológico en distintos aspectos morfológicos de los eritrocitos.

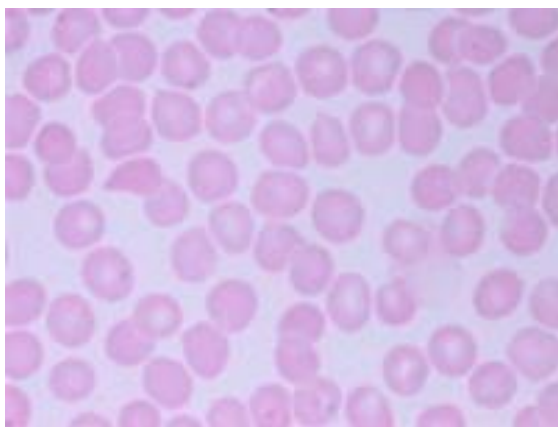


Fig. 7 Eritrocitos

La detección de tales alteraciones morfológicas es de gran importancia en aplicaciones clínicas, pues pueden indicar presencia de patologías que incluyen trastornos hereditarios, deficiencias hepáticas o renales, diferentes tipos de anemias y hasta distintas formas de cáncer, por ejemplo

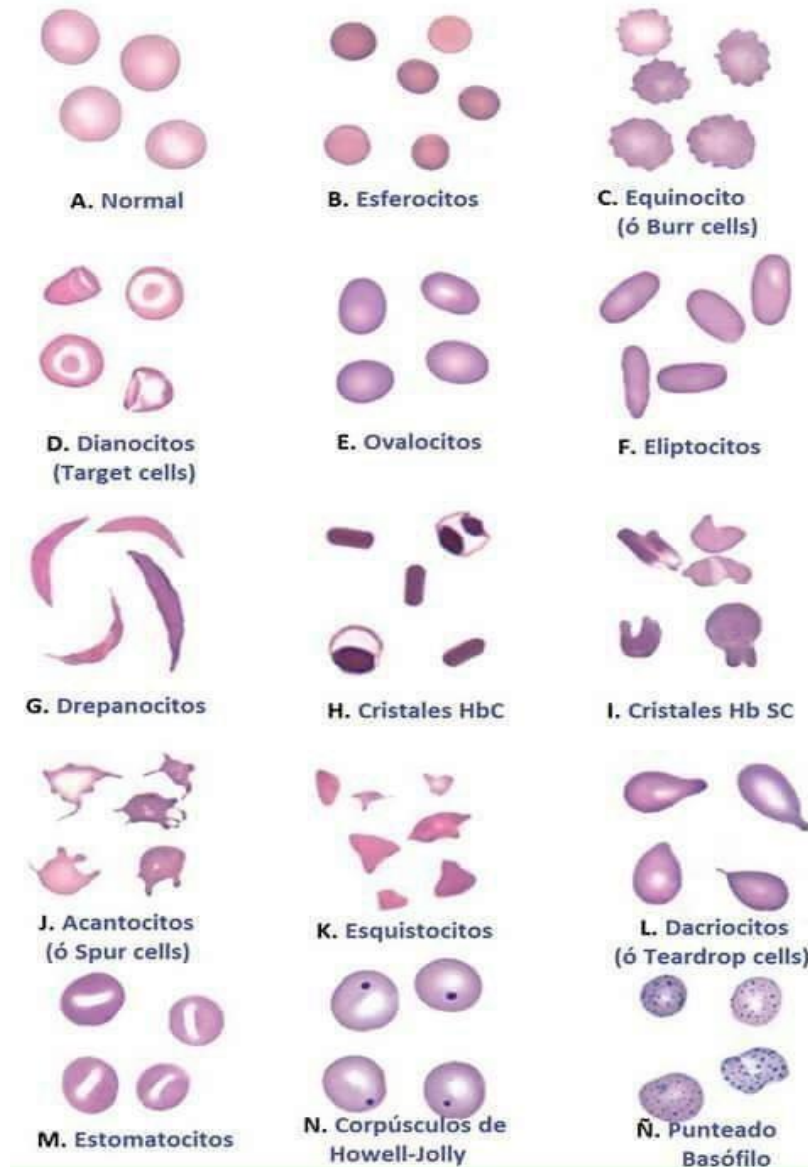


Fig. 8 Anormalidades de los eritrocitos

En caso de enfermedad se observan anomalías morfológicas y se clasifican en 4 categorías:

- a) **Anormalidades en el tamaño (Anisocitosis):** Son variaciones anormales en el tamaño de los eritrocitos; es una característica de la mayoría de las anemias.
- Macroцитos
 - Microцитos
 - Megalocitos



- b) **Anormalidades en la forma (poiquilocitosis):** Son variaciones en anormales en la forma del eritrocito.
- Esferocitos
 - Codocitos
 - Drepanocitos
 - Eliptocitos
 - Crenocitos o equinocitos
 - Acantocitos
 - Dacriocitos
 - Esquistocitos
 - Estomatocitos
 - Células en Diana o tiro al blanco
 - Rouleaux
- c) **Variación en el color:** Los eritrocitos normales tienen un HCM de aproximadamente 30 pg. En frotis teñidos, el eritrocito tiene un área central de palidez de más o menos la tercera parte del diámetro de la célula. En ciertos trastornos las células llegan a contener menos hemoglobina de lo normal. El único eritrocito que dispone de más hemoglobina de lo normal en relación con su volumen es el esferocito.
- Hipocromía
 - Hiperchromía
 - Policromatofilia
 - Anisocromía
- d) **Inclusiones anormales en los eritrocitos:**
- Punteado Basófilo
 - Anillos de Cabot
 - Cuerpos de Howell-Jolly
 - Cuerpos de Pappenheimer
 - Siderocitos

FUNDAMENTO:

Las células progenitoras de la serie roja que normalmente se encuentra en la médula ósea, pero cuando éstas pasan a sangre periférica antes de su maduración en normocitos o hematíes pueden sufrir ciertos cambios en su morfología, provocadas por ciertas patologías como leucemias, anemias u otras alteraciones celulares.

MATERIAL:

- Gradilla
- Tubos al vacío con EDTA
- Torniquete (ligadura)
- Agujas para toma múltiple (Vacutainer)
- Soporte para el sistema Vacutainer
- Torundas de algodón humedecidas en isopropanol al 70 %
- 10 portaobjetos
- Pipeta pasteur



DESARROLLO:

Preparación de frotis sanguíneo por método del portaobjetos

1. Homogeneizar la muestra de sangre en forma manual (invertir el tubo de 6 a 8 veces) con agitador mecánico dos minutos aproximadamente.
2. Con una pipeta Pasteur o con el tapón del tubo, colocar una pequeña gota de sangre (aproximadamente 2 mm de diámetro) sobre un portaobjetos limpio y seco a 1 cm de uno de sus extremos.
3. El extremo opuesto se sujeta con los dedos índice y pulgar de la mano izquierda.
4. Con la mano derecha se toma un segundo portaobjetos y se apoya en el primer portaobjetos por delante de la gota de sangre; formando un ángulo de 30° a 45°; por capilaridad extender la gota de sangre por todo el borde del portaobjetos.
5. Deslizar el segundo portaobjetos suavemente y a velocidad moderada sobre el primer portaobjetos en sentido longitudinal (adelante o hacia atrás), hasta que la gota de sangre quede bien extendida sobre la superficie del primer portaobjetos.
6. El grosor del frotis sanguíneo depende del ángulo entre los dos portaobjetos. Si el ángulo es mayor a 45°, la extensión será gruesa y corta y si el ángulo es menor a 45° será larga y fina.
7. Dejar secar el frotis a temperatura ambiente y en posición horizontal.

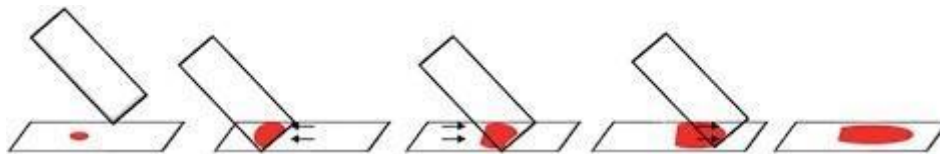


Fig. 9 Método para realizar frotis

Preparación de frotis sanguíneo por el método de los cubreobjetos

1. Tomar dos cubreobjetos limpios, sin grasa y secos.
 2. Colocar una pequeña gota de sangre en el centro de un primer cubreobjetos y colocarlo sobre un segundo cubreobjetos; de manera que las esquinas de los dos cubreobjetos formen una estrella de 8 picos. No olvidar homogeneizar la muestra antes de tomar la gota de sangre.
 3. La gota de sangre se extenderá uniforme y rápidamente sobre las dos superficies, formando una capa fina entre ambos cubreobjetos.
 4. Separar los cubreobjetos uno del otro en sentido opuesto con un movimiento firme, rápido y paralelo a sus superficies.
 5. Dejar secar los cubreobjetos con la extensión hacia arriba, sobre un papel limpio.
- NOTA: Si se trata de sangre capilar, el cubreobjetos no deberá tocar la piel del paciente y se debe cuidar que la muestra no se coagule antes de separar los cubreobjetos.

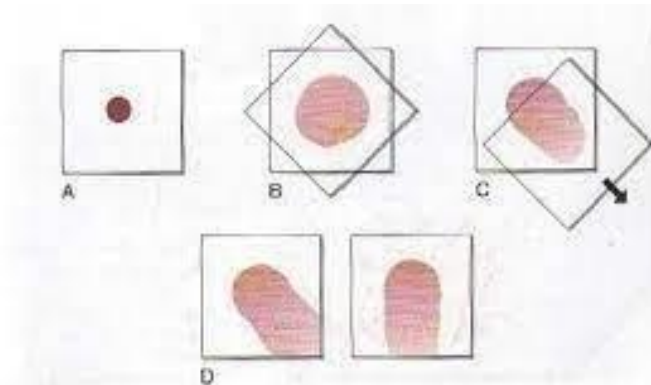


Fig. 9 Método para realizar frotis por el método de cubreobjeto

TRABAJO DEL ALUMNO:

1. Realizar la punción venosa de acuerdo al procedimiento con sistema al vacío o con jeringa.
2. Con las muestras de sangre obtenidas preparar frotis sanguíneos con los métodos portaobjetos y cubreobjetos.
3. Observar los frotis al microscopio (objetivos 10X, 40X y 100X), esquematizar y colorear las células sanguíneas identificadas.
4. Observar también un frotis teñido previamente, para identificar y diferenciar las diferentes células de la sangre

RESULTADOS: Esquematiza lo observado y cada una de las alteraciones morfológicas revisadas.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS:

CUESTIONARIO:

1. Explica en qué patologías se presenta cada una de las alteraciones de los glóbulos rojos antes mencionadas.
2. Investiga qué otras alteraciones en los glóbulos rojos existen.
3. Menciona otras causas no patológicas que provoquen este tipo de alteraciones

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



Clave: AH-P3	Revisión: Julio 2023	Fecha de emisión: Agosto 2023	Página: 12 de 59
--------------	----------------------	-------------------------------	------------------

PRÁCTICA NO. 3

DETERMINACIÓN DE HEMOGLOBINA, HEMATOCRITO E ÍNDICES HEMÁTICOS

APRENDIZAJES ESPERADOS.

Aplica las técnicas de la serie roja normal y patológica mediante la determinación de los parámetros hemáticos Hemoglobina y Hematocrito para coadyuvar en el diagnóstico clínico.

INTRODUCCIÓN.

Hemoglobina (Hb).

La Hb se mide en gramos por decilitro (g/dl) y representa la cantidad de esta proteína por unidad de volumen. Este parámetro debe ser el único a emplear para definir si hay o no anemia, es decir, sólo si las cifras de hemoglobina son inferiores a los valores normales puede asegurarse que existe anemia. Las cifras “normales” o de “referencia” de la hemoglobina son variables y dependen de: edad, sexo, altura del sitio de residencia, etcétera. A la altura de la Ciudad de México (2240 m sobre el nivel del mar), las cifras inferiores normales de hemoglobina en adultos son 12.5g/dL, para mujeres y de 15.5g/dL, para varones. Las cuantificaciones de Hb inferiores a las mencionadas permiten establecer el diagnóstico de anemia. Las cifras de hemoglobina superiores a 16.6g/dL para mujeres y 19.5g/dL para varones permiten establecer diagnóstico de eritrocitosis, a la altura de la Ciudad de México. El término de policitemia debe reservarse para situaciones en las que además de eritrocitosis, hay leucocitosis o trombocitosis.

Hematocrito (Hct).

Se mide en porcentaje (%) y representa la proporción de eritrocitos en el total de la sangre. Este parámetro no debe emplearse para establecer la existencia de anemia. Los valores normales del hematocrito dependen también del sexo, la edad y altura del sitio de residencia. A nivel de la Ciudad de México, el hematocrito de referencia oscila entre 46 y 56% para varones y entre 39 y 50% para mujeres.



Número de glóbulos rojos (GR)

Se mide en millones por microlitro (millones/ μL). Su valor normal depende también de los factores señalados para los otros dos parámetros (Hb y Hct). Para la altura del altiplano mexicano, los valores de referencia en adultos son: varones 5.0 a 6.3 millones/ μL ; mujeres 4.1 a 5.7 millones/ μL . El empleo actual de contadores de partículas por citometría de flujo permite calcular con gran exactitud este parámetro eritrocítico. Cuando no se cuenta con citómetro de flujo para hacer la medición del número de GR, es preferible no proporcionar este dato, dado el margen de error tan grande de la cuantificación con métodos manuales.

Indices eritrocitarios.

El volumen corpuscular medio (VCM), la hemoglobina corpuscular media (HbCM) y la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHbCM) son los índices eritrocitarios. Éstos se calculan para determinar el tamaño y el contenido de Hb medios de los eritrocitos. Además de servir como un control de calidad, los índices pueden usarse para diferenciar las anemias.

Volumen globular medio (VGM)

Se mide en femtolitros (fL) o micras cúbicas. Este índice eritrocítico, medido directamente con citometría de flujo, es de gran valor en el esclarecimiento de la causa de anemia. Los valores del VGM permiten saber si una anemia es macrocítica (VGM mayor a los límites normales) o microcítica (VGM menor a los límites normales, que a la altura de altiplano mexicano es 83 a 98 fL para varones y de 78 a 103fL para mujeres). Más del 80% de los casos de anemia en la República Mexicana está dado por anemias microcíticas (VGM bajo), y de ellas, la más frecuente es la anemia por deficiencia de hierro, si bien no se deben olvidar las talasemias como causa de anemia microcítica. En algunas comunidades de la costa del Golfo de México, hasta 15% de los habitantes es portador de talasemia, en la mayoría de los casos de talasemia beta. Los valores de VGM, son habitualmente más bajos en talasemia que en deficiencia de hierro que en la talasemia. Las anemias que cursan con cifras anormales altas de VGM, también llamadas megaloblástica (carencia de folatos o de vitamina B12), a mielodisplasias, anemia aplásica, etcétera.



Hemoglobina corpuscular media (HCM)

Se expresa en picogramos (pg) y representa la cantidad promedio de hemoglobina en cada eritrocito. Los citómetros de flujo determinan este índice dividiendo la Hb entre el número de GR y multiplicando el cociente por 10. En virtud de que este índice se calcula a partir de dos datos obtenidos directamente de la citometría de flujo, se trata de un índice muy confiable. A la altura de la Ciudad de México, los valores de referencia de la HCM son de 27 a 34 pg. Este índice debe ser el único que emplee para referirse a la cantidad de hemoglobina contenida en cada eritrocitos, es decir, se hablará de hipocromía y normocromia cuando el valor de HCM sea subnormal o normal, respectivamente. La asociación de un valor subnormal de HCM (hipocromía) con un valor subnormal de VGM (microcitosis), permite establecer la entidad de microcitosis e hipocromía, que pueden acompañarse o no de anemia. En la República Mexicana, la causa más frecuente de anemia microcítica hipocrómica es la deficiencia de hierro, seguida de la talasemia, la utilidad de HCM para estas consideraciones sólo es válida cuando la CH se ha llevado a cabo por medio de citometría de flujo; el HCM no es confiable cuando se emplean métodos manuales para su determinación.

Concentración media de hemoglobina (CmHb)

Este índice eritrocítico, medido como porcentaje (%), se determina dividiendo la Hb multiplicada por 100 entre el Htc. Como el Htc es un parámetro eritrocítico calculado a partir de GR y del VGM con los citómetros de flujo, la CmHb es un dato de referencia menos útil e inexacto. Los valores de referencia de CmHb son de 32 a 34% para varones y de 30 a 34% para mujeres (adultos en el altiplano mexicano).

La molécula de hemoglobina es una proteína conjugada. La hemoglobina es el componente principal de los eritrocitos; su concentración en ellos es de alrededor de 34 g/dL. Es un pigmento rojo con un peso molecular de 68 000 daltons y actúa como vehículo para el transporte de oxígeno en el organismo.

MATERIAL

- Tubos capilares
- Gradilla para tubos de ensayo
- Tubos de ensayo de 13x100mm
- Torundas con alcohol al 70%
- Ligadura
- Cánula metálica
- Tubo de Wintrobe

EQUIPO.

- Microcentrífuga
- Centrífuga
- Espectrofotómetro
- Equipo vacutainer



- Pipeta Pasteur
- Papel absorbent
- Tubos al vacío con E.D.T.A
- Micropipeta
- Cubetas

REACTIVOS.

- Reactivo de Drabkin

FUNDAMENTO

1. Hemoglobina).

La hemoglobina de los glóbulos rojos reacciona con el Ferricianuro de potasio (reactivo de Drabkin). El ferricianuro oxida al hierro de la hemoglobina de ferroso (++) a férrico (+++) para formar la metahemoglobina, la cual se combina con cianuro potásico resultando un pigmento estable; la cianometahemoglobina (color rojizo). La intensidad de color es directamente proporcional a la concentración de hemoglobina presente en la muestra.

2. Hematocrito).

Cuando la sangre con anticoagulante es centrifugada por un tiempo establecido, los eritrocitos sedimentan formando un paquete globular, mientras que en la parte superior queda el plasma; líquido claro y ligeramente amarillento. El cociente entre el volumen de elementos formes y el volumen de sangre total es lo que se denomina hematócrito.

DESARROLLO:

1. Hemoglobina por el método de Cianometahemoglobina

1. Obtener sangre por punción venosa y colocarla en un tubo que contenga anticoagulante (E. D. T. A.). Homogeneizar manualmente por inversión del tubo o en agitador mecánico.
2. Llenar la pipeta de Sahli con la sangre aforando hasta la marca de 20, equivalente a 0.02mL (20 μ L).
3. Limpiar el exceso de sangre de la pipeta.
4. Depositar la sangre en un tubo que contenga 5mL. de reactivo de Drabkin.
5. Homogeneizar mediante burbujeo con la pipeta de Sahli o por inversión del tubo.



6. Dejar reposar 10 minutos a temperatura ambiente.
7. Leer a 540 nm, ajustando a cero con el blanco de reactivos.
8. Calcular la concentración del problema mediante el uso de la fórmula siguiente:

$$\text{Concentracion Hb} = \text{Abs.} \cdot \frac{M}{S_t} \times \text{Concentracion del standar}$$

VALORES DE REFERENCIA(Hb):

Hombres: 15.5 a 19.5g/dL

Mujeres: 12.5 a 16.6g/dL

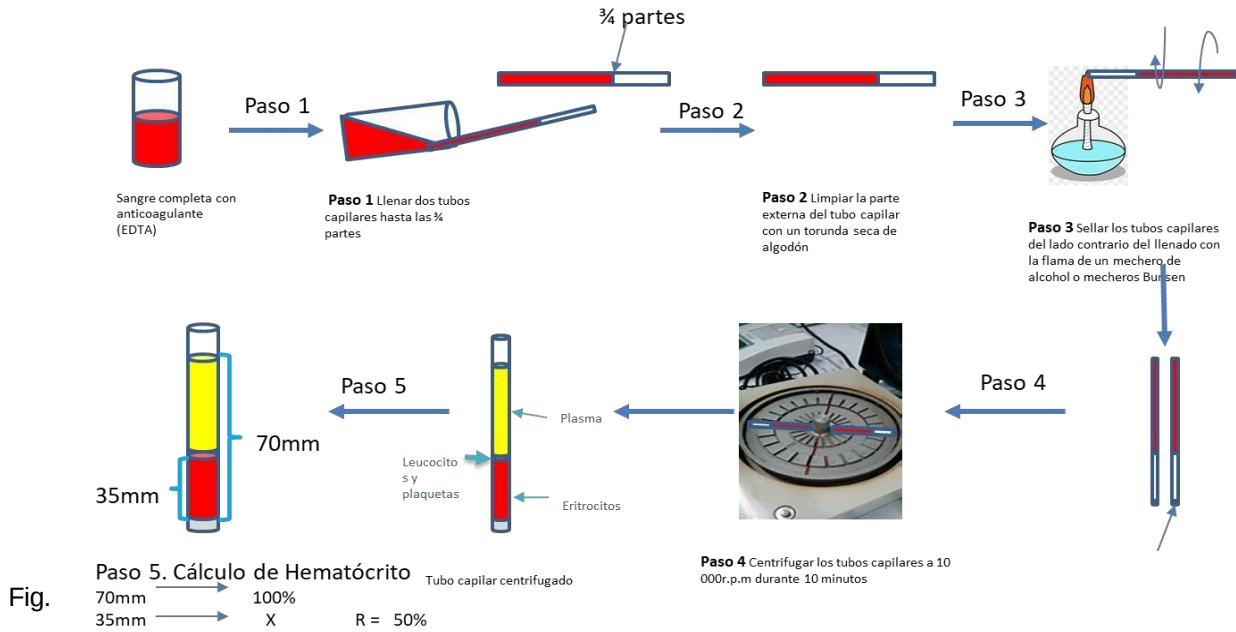
2. Hematócrito

a) Macrométodo:

1. Obtener sangre venosa con anticoagulante. No olvidar homogeneizar el tubo de la muestra.
2. Con una cánula metálica conectada a una jeringa o con una pipeta Pasteur; aspirar sangre completa del tubo de muestra.
3. Llenar el tubo de Wintrobe comenzando desde el fondo, conforme se llena el tubo se va sacando la cánula, hasta la marca de 0 – 10 (evitar la formación de burbujas durante el llenado).
4. Centrifugar 3000 r.p.m, durante 30 minutos.
5. Realizar la lectura del hematócrito (columna de glóbulos rojos), la franja blanca es de leucocitos y no se toma en cuenta. Con la escala de abajo hacia arriba se determina el % de hematocrito; cada subdivisión en mm equivalen a 1%; por lo tanto 10 cm equivale a un 100%

b) Micrométodo:

1. Se obtiene sangre venosa o capilar.
2. Tomar un tubo capilar y llenar tres cuartas partes.
3. Sellar el tubo capilar en el extremo contrario al llenado; a la flama del mechero, girar el tubo capilar.
4. Centrifugar durante 10 minutos en la microcentrífuga (10,000 r.p.m.)
5. Al término de la centrifugación; calcular el % de hematocrito por regla de 3 (figura 2) o en el lector de microhematocrito (dispositivo de plástico con escala en porcentaje %).



Hematocrito

1

VALORES DE REFERENCIA(Hto):

Hombres: 46 a 56%

Mujeres: 39 a 50%

3. Indices Eritrocitarios

Para poder calcular los índices eritrocitarios es importante conocer la cantidad de glóbulos rojos por mm³ usando el valor del hematocrito, obtenido mediante la siguiente fórmula:

$$No.GR/mm^3 = Hto + 10\% Hto \times 100000$$

Volumen corpuscular medio.

El VCM es el volumen medio de los eritrocitos, expresado en femtolitros (fL), o sea 10^{-15} L:

$$VCM = \frac{Hto(\%)}{No.GR} (10)$$

Ejemplo.

$$VCM = 45 \times 10 / 5 = 90 \text{ fL}$$



Hemoglobina corpuscular media

La HbCM es el peso medio de la Hb en un eritrocito, expresado en picogramos (pg), o sea, 10^{-12} g:

$$HbCM = \frac{H(b_{dL})}{No. GR} \times 10$$

Por ejemplo, si la Hb = 16 g/dL y el recuento de eritrocitos = $5,0 \times 10^{12}/L$

$$HbCM = 16 \times 10 / 5 = 32 \text{ pg.}$$

Concentración de hemoglobina corpuscular media

La CHbCM es la concentración media de Hb en cada eritrocito. Las unidades usadas son gramos por decilitro (antes se expresaba en porcentaje):

$$CHbCM = \frac{Hb(\frac{g}{dL})}{Hto(\%)} \times 100$$

Por ejemplo, si la Hb = 16 g/dL y el Hto = 48%,

$$CHbCM = 16 \times 100 / 48 = 33.3 \text{ g/dL}$$

VALORES DE REFERENCIA (Índices hemáticos):

VCM: de 83 a 98 fL en hombres y de 78 a 103 fL en mujeres

HCM: 27 a 34pg.

CmHb: de 32 a 34% en hombres y de 30 a 34% en mujeres

Los valores de las células normocrómicas varían de 32 a 37 g/dL, los de las células hipocrómicas son menores de 32 g/dL y los de las células hiperocrómicas son mayores que 37 g/dL. Los eritrocitos hipocrómicos se encuentran en las talasemias y en la deficiencia de hierro.



TRABAJO DEL ALUMNO.

1. Procesar la muestra del paciente de acuerdo a la metodología establecida.
2. Determinar la concentración de hemoglobina del paciente en g/100mL mediante la fórmula.
3. Promediar los resultados de la concentración de hemoglobina obtenidos para hombres y mujeres del grupo.
4. Realizar macro y microhematócrito.
5. Calcular los valores del micro hematocrito por los diferentes dispositivos.
6. Calcular por medio del hematocrito la cantidad de glóbulos rojos del paciente.
7. Con los datos obtenidos de hemoglobina y de glóbulos rojos calcular los Índices Hemáticos
8. Realizar una tabla de resultados por grupo.

RESULTADOS

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

CUESTIONARIO

1. ¿Cuál es la utilidad de la hemoglobina y el hematocrito en el diagnóstico clínico?
2. La hemoglobina se combina con el oxígeno para formar oxihemoglobina, ¿Es ésta reacción fácilmente reversible?
3. Menciona la composición química del reactivo de Drabkin?
4. En la determinación del hematocrito, mencione las ventajas y desventajas del macrométodo con respecto al micrométodo.
5. De los dispositivos para calcular el % de hematocrito, ¿Cuál consideras que sea el más confiable y por qué?

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.



Clave: AH-P4	Revisión: Julio 2023	Fecha de emisión: Agosto 2023	Página: 20 de 59
--------------	----------------------	-------------------------------	------------------

PRÁCTICA NO. 4 RECuento DE RETICULOCITOS Y DETERMINACIÓN DE VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN GLOBULAR

APRENDIZAJE ESPERADO:

Aplica las técnicas para determinar Reticulocitos y VSG como indicadores de enfermedad.

FUNDAMENTO:

1. El RNA residual de los hematíes inmaduros (reticulocitos) es precipitado y teñido con una tinción supravital de azul de cresil brillante, lo cual permite identificarlos. Se preparan las extensiones y se cuentan las células que contienen precipitados (reticulares) teñidos. Los resultados se expresan en porcentajes de los reticulocitos examinados y en cifras absolutas por milímetro cúbico.
2. La velocidad de sedimentación globular (VSG) constituye una medida indirecta del grado de inflamación presente en el organismo. La prueba está midiendo en realidad la velocidad de caída (sedimentación) de los eritrocitos o hematíes (glóbulos rojos) de la sangre en un tubo de ensayo largo y estrecho

INTRODUCCIÓN:

Los reticulocitos son eritrocitos jóvenes anucleados, pero que contienen RNA residual y mitocondrias en el citoplasma. El RNA residual le da un tinte azulado con la tinción. La célula puede describirse en forma más apropiada como un eritrocito policromatófilo. Los reticulocitos son algo más grandes que el eritrocito maduro y constituyen alrededor del 1% de los glóbulos rojos circulantes. Estas células pueden ser identificadas por su reacción con los colorantes supravitales, azul de metileno o azul de cresil brillante. Con este método los reticulocitos son identificados por la presencia de inclusiones azul púrpura. Los reticulocitos suelen permanecer de 2 a 3 días en la médula ósea y un día adicional en la sangre periférica antes de convertirse en eritrocitos maduros. La cuenta de reticulocitos en la sangre periférica indica el grado de eficacia de la actividad en la médula ósea y es una de las pruebas de laboratorio más eficaces en relación con el costo dentro de la clasificación de la fisiopatología de la anemia. En la persona sana de edad avanzada parece disminuir el periodo de vida del eritrocito.

Esto se compensa por una médula ósea activa, de tal modo que la hemoglobina y el hematócrito permanecen dentro de los límites de referencia de otros adultos. No obstante, hay una ligera reticulocitosis que refleja el aumento en la producción de eritrocitos. El número de reticulocitos se expresa como porcentaje del número total de eritrocitos contados. Pueden producirse interpretaciones erróneas cuando



solo se informa el porcentaje de reticulocitos presentes en la sangre periférica, ya que estos resultados dependen del número total de eritrocitos presentes en la sangre periférica.

Si la cifra total de eritrocitos está disminuida, el porcentaje de reticulocitos no refleja de manera precisa la producción de nuevos eritrocitos por la médula ósea

Por otro lado, cuando se deja reposar sangre que tiene anticoagulante, los eritrocitos se aglutinan formando cilindros de células llamadas pilas, y luego se sedimentan. La velocidad con la que ocurre ésta se llama Velocidad de Sedimentación Globular. La velocidad de este proceso depende de varios factores, los más importantes son la velocidad a la cual se forman las pilas y su tamaño; este a su vez depende del fibrinógeno plasmático y las globulinas. No todas las muestras de sangre sedimentan con la misma velocidad, en este proceso, intervienen otros factores, como por ejemplo la viscosidad, la carga iónica de los hematíes, elementos lipídicos, etc.

Las muestras de sangre que sedimentan con rapidez presentan conglomerados de hematíes en forma de pilas de monedas que se unen luego a otros conglomerados semejantes. En cambio, la sangre que se sedimenta con lentitud presentan algunos conglomerados semejantes, pero la mayor parte de los glóbulos rojos permanecen formando paquetes aislados e irregulares.

De acuerdo con Barcells-Gorina, el valor diagnóstico de la eritrosedimentación reside en los siguientes fundamentos:

- a) Índice de la intensidad de un proceso patológico.
- b) El color de la columna de plasma puede demostrar la existencia de una hiperbilirrubinemia cuando aún la ictericia no es manifiesta.
- c) El aspecto lechoso permite detectar una hiperlipemia.

Desde luego, la eritrosedimentación presenta limitaciones porque es inespecífica, tiene un carácter en general tardío y es inconstante. Existen varios sistemas para medir la VSG, como son los de aspiración neumática de la sangre y cierres herméticos de la parte inferior y superior.

Los métodos más empleados para la determinación de la VSG en el laboratorio son el de Wintrobe, el de Westergren y el micrométodo.

MATERIAL:

- Gradilla
- Tubos al vacío con EDTA
- Torniquete (ligadura)
- Aguja para toma múltiple (Vacutainer)
- Soporte para el sistema Vacutainer
- Torundas de algodón humedecidas en isopropanol al 70 %
- 4 portaobjetos
- Pipeta pasteur
- Tubos de ensayo de 10 x 75 mm
- Pipetas Pasteur con bulbo de hule
- Portaobjetos
- Puentes de vidrio para tinción
- Solución colorante de nuevo azul de metileno
- Solución de azul de cresil brillante

EQUIPO:

Microscopio



- Tubo de wintrobe
- Gradilla de sedimentación
- Cánula metálica

DESARROLLO:

1. RETICULOCITOS

1. Colocar en un tubo de ensaye limpio y seco 12 gotas de sangre y 12 gotas de colorante azul de cresil brillante o colorante nuevo azul de metileno.
2. Mezclar e incubar durante 10 a 15 minutos a baño maría a 37°C.
3. Decantar el sobrenadante (aproximadamente la mitad del mismo).
4. Con el sobrenadante obtenido, mezclar y realizar frotis (procurar que el frotis no sea tan grueso ni tan delgado)
5. Enfocar el microscopio a 10X, 40X y 100X (objetivo de inmersión, en este último contar el número de reticulocitos encontrados en 1000 eritrocitos (aproximadamente en 5 campos donde se observen reticulocitos).
6. Mediante una proporción directa calcular el porcentaje de reticulocitos en 1000 eritrocitos como se indica a continuación:

$$\% \text{ Reticulocitos} = \frac{\text{No. reticulocitos} \times 100}{1000 \text{ eritrocitos}}$$

Corrección de la Cuenta de Reticulocitos cuando hay Anemia:

$$\frac{\% \text{ Reticulocitos} \times \text{hematocrito del paciente}}{\text{hematocrito promedio Hombre o Mujer}}$$

/

$$\text{Cuenta absoluta de reticulocitos /mm}^3 = \text{No. reticulocitos} \times \text{No. Glóbulos rojos/mm}^3$$

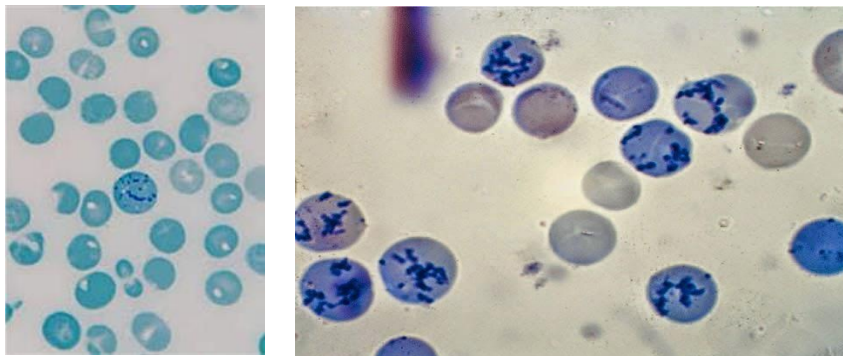


Fig. 1 Reticulocitos



VALORES DE REFERENCIA:

Adultos: 0.5 a 1.5%

Recién nacidos: 2.5 a 6.0%

2. VSG

1. Se recoge la sangre con EDTA como anticoagulante en el tubo de hemólisis mezclado suavemente.
2. Con la ayuda de la cánula metálica o pipeta Pasteur llenar el tubo de Wintrobe hasta la marca 0-10, evitando la formación de burbujas.
3. Colocar en la gradilla de sedimentación verticalmente durante 1 hora.
4. Medir la Velocidad de Sedimentación Globular después de 1 hora (observar la lectura cada 15 minutos).



Fig. 2 Gradilla de sedimentación y tubo wintrobe

VALORES DE REFERENCIA:

Hombres 0 a 7 mm/hora

Mujeres 0 a 15 mm/hora

Niños 0 a 15 mm/hora

TRABAJO A DESARROLLAR POR EL ALUMNO:

1. Realizar la determinación de VSG por el método macro y micrométodo.
2. Realizar un cuadro con los resultados de los equipos e interpretarlo.
3. Mientras se mide la VSG
4. Realizar frotis y tinción para identificar con claridad la morfología de los reticulocitos.



5. Identificar los reticulocitos en el microscopio
6. Realizar esquemas de los mismos.
7. Realizar el correcto conteo de los reticulocitos.
8. Realizar los cálculos correspondientes.

RESULTADOS:

ANÁLISIS DE RESULTADOS:

CUESTIONARIO:

1. Mencione otros métodos de laboratorio para el recuento de reticulocitos.
2. ¿Qué importancia tiene el recuento de reticulocitos en el diagnóstico clínico?
3. ¿Qué otros colorantes se pueden utilizar para la tinción de reticulocitos?
4. ¿Cuáles fueron las dificultades que encontraste en el desarrollo de esta prueba?
5. ¿Qué importancia tiene la determinación de la VSG para el diagnóstico clínico?
6. ¿Qué ventajas y desventajas tiene el método utilizado con otros métodos?
7. Mencione los factores que puedan alterar los resultados.
8. Mencione las patologías en que se encuentra alterada la VSG

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:



Clave: AH-P5	Revisión: Julio 2023	Fecha de emisión: Agosto 2023	Página: 25 de 59
--------------	----------------------	-------------------------------	------------------

PRACTICA No. 5 LEUCOPOYESIS Y MORFOLOGIA DE LEUCOCITOS

APRENDIZAJE ESPERADO

Describe los órganos leucopoyéticos y linfopoyéticos, así como el proceso de leucopoyesis mediante preparaciones fijas de médula ósea y sangre periférica auxiliar en el diagnóstico.

INTRODUCCIÓN.

La leucopoyesis, o desarrollo de leucocitos, con excepción de los linfocitos, se produce en el mismo lugar de la eritropoyesis. Estos sitios cambian a lo largo de la vida, comenzando en el saco vitelino del mesénquima, seguido del bazo y el hígado, y por último la médula ósea. La leucopoyesis es el proceso general de formación de los leucocitos. Incluye a la granulopoyesis y la agranulopoyesis. El primer término se refiere a la producción de granulocitos que da origen a todas las células de la línea granulocítica (neutrófilos, eosinófilos y basófilos), mientras que el segundo, a la generación de los agranulocitos (monocitos y linfocitos).

Otra característica importante en la morfología de los leucocitos es la coloración, dentro de los leucocitos granulosos; los que tienen gránulos específicos que se tiñen ávidamente con colorantes ácidos, se llaman leucocitos granulosos acidófilos ya que la resina es el colorante que suele emplearse.

Los que tienen gránulos que se tiñen intensamente con colorantes básicos se llaman leucocitos granulosos basófilos o sencillamente basófilos.

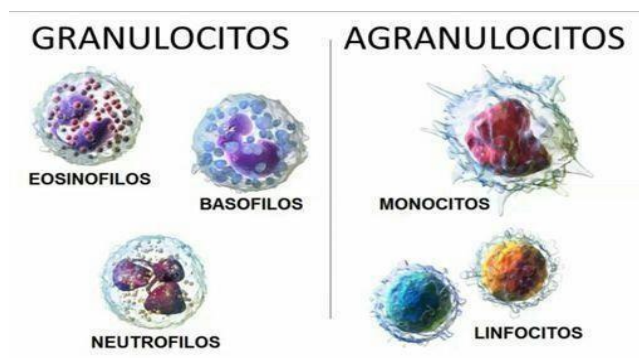


Fig. 1. Clasificación de leucocitos.



A partir de un frotis sanguíneo teñido puede observarse la morfología y el número de leucocitos. La extensión sanguínea, una vez seca, debe someterse a un proceso de fijación para poder ser teñida mediante el colorante de elección. Este paso es omitido cuando se emplea la tinción de Wright, pues el colorante ya contiene un fijador a diferencia de otros colorantes. La fijación tiene lugar en el primer minuto cuando se aplica un colorante sin diluir. Con los colorantes acuosos hay que emplear agentes químicos o calor antes de la aplicación del colorante. La mayoría de los colorantes son compuestos orgánicos que tienen alguna afinidad específica por los materiales celulares. Muchos colorantes utilizados con frecuencia son moléculas cargadas positivamente (cationes) o negativamente (aniones).

- Colorantes ácidos: Son moléculas cargadas negativamente (aniones) y se combinan con los constituyentes celulares cargados positivamente, tales como las proteínas. También son llamados basófilos, el ejemplo más común es la eosina.
- Colorantes básicos: Son compuestos catiónicos con afinidad por los constituyentes celulares cargados negativamente, tales como los ácidos nucleicos y los polisacáridos ácidos; a estos colorantes también se les conoce como acidófilos. Ejemplo de colorantes acidófilos son el azul de metileno.
- Colorantes policromáticos: Tradicionalmente, las tinciones se han logrado mediante el uso de colorantes que con frecuencia derivan de la anilina (tinciones tradicionales o clásicas). Los colorantes policromáticos son el resultado de la combinación de un colorante básico (azul de metileno) y un colorante ácido (eosina), que, al reaccionar entre sí, generan

FUNDAMENTO

Los colorantes tipo Romanowsky están formados por Azul de Metileno y sus derivados oxidados, colorantes básicos, y el colorante ácido Eosina. Los colorantes básicos se unen a los componentes ácidos de las células, ácidos nucleicos, gránulos en neutrófilos y proteínas ácidas que se tiñen de un color rojo púrpura más o menos intenso, mientras que la eosina se une a la hemoglobina, componentes básicos de las estructuras celulares y los gránulos de los eosinófilos.

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS

Material de laboratorio

1 pipeta pasteur con bulbo
10 portaobjetos
Gradilla
Puente de tinción
Equipo vacutainer/agujas
Gradilla
Ligadura o tubo látex

Equipo

Microscopio
Contador mecánico

Reactivos

Colorante de Wright
Torundas con alcohol al 70%
Aceite de inmersión
Solución Buffer de fosfatos



DESARROLLO:

Tinción de Wright

1. Hacer un frotis sanguíneo.
2. Colocarlo sobre el puente de tinción.
3. Al frotis se le agrega colorante de Wright cubriendo toda la extensión.
4. Inmediatamente después se le agrega el buffer, dejando reposar de 5 a 10 minutos. También se puede agregar los reactivos por separado, primero el colorante de Wright durante 10 minutos, cubriendo totalmente la extensión y posteriormente la solución buffer durante 8 minutos. El tiempo para la tinción va a depender de la madurez del colorante, entre más maduro menor es el tiempo de tinción.
5. Con la pipeta Pasteur soplar a la muestra para mezclar el colorante de Wright y la solución buffer
6. Lavar a chorro de agua procurando no dañar la película de sangre.
7. Dejar secar el frotis teñido a temperatura ambiente limpiando el excedente de colorante de la parte posterior con una torunda de alcohol.
8. Enfocar con el objetivo de 10X y 40X observar al microscopio con el objetivo de inmersión (100X).

Trabajo a desarrollar por el alumno

1. Realizar un Frotis sanguíneo y teñirlo con el colorante de Wright.
2. Observar el Frotis al microscopio a 10X, 40X y 100X.
3. Identificar las características morfológicas y tintoriales de los leucocitos
4. Hacer esquemas de los 5 tipos de leucocitos y reportar las características tintoriales de cada uno
5. Así mismo identificar las demás células presentes en el frotis.

RESULTADOS

CUESTIONARIO

1. Menciona las características tintoriales que presentan los leucocitos al teñirlos con colorante de Wright.
2. Menciona la composición del colorante de Wright
3. Menciona otros ejemplos de tinciones del tipo Romanowsky
4. Define el concepto de basófilo y acidófilo
5. Menciona la afinidad de las estructuras celulares de los leucocitos con los colorantes que componen el colorante de Wright



Clave: AH-P6	Revisión: Julio 2023	Fecha de emisión: Agosto 2023	Página: 28 de 59
--------------	----------------------	-------------------------------	------------------

PRACTICA No.6

CUENTA DIFERENCIAL Y VALORES ABSOLUTOS DE LEUCOCITOS

APRENDIZAJE ESPERADO

Analiza los parámetros de la serie blanca bajo los lineamientos de control de calidad y las buenas prácticas de laboratorio, para coadyuvar el diagnóstico clínico manteniendo la bioseguridad en el laboratorio clínico.

INTRODUCCIÓN

La morfología de las células sanguíneas es el complemento de la biometría hemática. Sólo a través de un examen cuidadoso de un frotis sanguíneo se pueden obtener indicios adicionales de la naturaleza de una anemia, una leucemia u otra patología, así como cambios en la forma y características de tinción de los eritrocitos y leucocitos. El recuento diferencial puede definirse como un estudio cualitativo de los eritrocitos, plaquetas y leucocitos de cada tipo: polimorfonucleares, linfocitos y monocitos, junto a un estudio de la edad y anomalías morfológicas de los mismos. Otra definición sencilla de lo que es una cuenta diferencial es: expresar en porcentajes las cantidades de cada tipo de leucocitos presentes en la sangre; por lo tanto se puede considerar como un análisis cuantitativo y cualitativo simultáneamente. Cuando se realiza una cuenta diferencial manual se debe tomar en cuenta lo siguiente:

- Contar como mínimo 100 células, lo ideal sería realizar una cuenta de 200 células, sin embargo, por la optimización de tiempo 100 células es un número aceptable. La cantidad de células a contar puede variar dependiendo de la cantidad absoluta de leucocitos, del criterio y habilidad del analista, tomando en cuenta que entre menos células se cuentan, el error aumenta y entre más células sean contadas, el error disminuye. Por ejemplo, si se tiene una cuenta absoluta de <3000 leucocitos/ μL sería preferible hacer una cuenta diferencial en 50 leucocitos, pero si por el contrario, se tiene una cuenta absoluta de más de 100×10^3 leucocitos/ μL , la cuenta diferencial podría aplicar hasta en 500 leucocitos.
- Los distintos tipos de leucocitos (monocitos, linfocitos o PMN) deben reportarse en porcentajes relativos. Las células inmaduras también deben reportarse.
- La presencia de eritroblastos puede generar interferencia en la cuenta total de leucocitos, por lo cual su cuantificación debe ser independiente de la cuenta diferencial y se debe mencionar el porcentaje de eritroblastos en el reporte de la cuenta diferencial.
- Observar la morfología de los leucocitos para identificar cualquier anomalía



FUNDAMENTO

La cuenta diferencial se basa en la tinción de Wright, debido a que la eosina y el azul de metileno reaccionan a los cambios de pH de los distintos componentes celulares, los que poseen carácter básico fijan en mayor medida la eosina (colorante ácido), mientras que los que poseen carácter ácido fijan mejor el azul de metileno (colorante básico) y nos dan una gama de colores en las células hemáticas que permiten clasificar a los leucocitos polimorfonucleares con base a sus propiedades tintoriales en neutrófilos, eosinófilos y basófilos; diferenciar a los mononucleares (monocitos y linfocitos) por la coloración de su citoplasma y además permiten observar con mayor facilidad las anomalías morfológicas en los mismos.

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS

Material de laboratorio

1 pipeta pasteur con bulbo
10 portaobjetos
Gradilla
Puente de tinción
Equipo vacutainer/aguja
Gradilla
Ligadura o tubo látex

Equipo

Microscopio
Contador mecánico

Reactivos

Colorante de Wright
Torundas con alcohol al 70%
Aceite de inmersión
Solución Buffer de fosfatos

PROCEDIMIENTO

1. Hacer un frotis sanguíneo inmediatamente después de tomar la muestra, porque los anticoagulantes tienden a alterar la morfología de las células o de preferencia con la sangre sin anticoagulante que queda en la jeringa.
2. Colocar el frotis sobre el puente de tinción. Agregar colorante de Wright cubriendo toda la extensión; inmediatamente después se le agrega el buffer, dejando reposar de 5 a 10 minutos.
3. También se pueden agregar los reactivos por separado, primero el colorante de Wright durante 10 minutos, cubriendo totalmente la extensión y posteriormente la solución buffer durante 8 minutos.
4. Con la pipeta Pasteur soplar a la muestra para mezclar el colorante de Wright y la solución buffer.
5. Enjuagar a chorro de agua procurando no dañar la película de sangre.
6. Dejar secar el frotis teñido a temperatura ambiente limpiando el excedente de colorante de la parte posterior con una torunda de alcohol.
7. Enfocar con el objetivo de 10X y observar al microscopio con el objetivo de inmersión (100X). Realizar el conteo de los diferentes leucocitos en el centro del frotis y con desplazamientos en forma de greca.

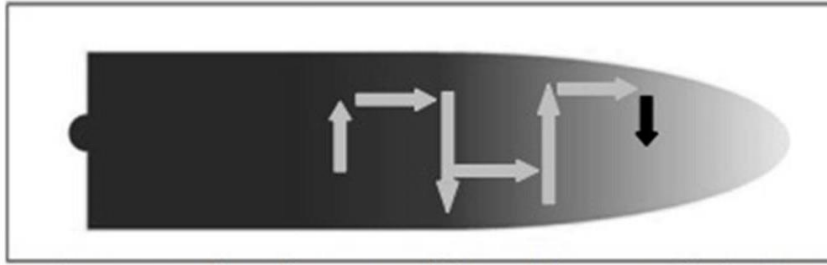


Fig. 1 Patrón a seguir para realizar la cuenta diferencial en un frotis.
La cuenta diferencial se hace de este modo con el objeto de incluir las áreas central y periférica del frotis

8. Los diferentes leucocitos se van registrando en el contador manual, hasta contar 100 células.

Como la cuenta diferencial tiene un valor relativo es necesario también reportar la cuenta diferencial en valores absolutos, para poder apreciar una patología real en la cantidad de cada tipo leucocitario. Para obtener los valores absolutos se emplea la siguiente fórmula:

$$\text{Valor absoluto en mm}^3 = \text{Cuenta total de } \frac{\text{leucocitos}}{100} \times \% \text{ del tipo de leucocito}$$

Agranulócitos

Granulócitos

Linfócitos

Monócitos

Eosinófilos

Basófilos

Neutrófilos



Fig. 2. Morfología de los leucocitos



Valores de referencia

Tipo de leucocito	Porcentaje (%)	Valores absolutos x μL de sangre
Linfocitos	18 a 45	1000 - 4200
Monocitos	3 a 10	100 - 800
Eosinófilos	1 a 4	100 - 200
Basófilos	0 a 1	< 100
Neutrófilos totales	50 a 70	1500 - 7000
Neutrófilos segmentados	45 a 65	2000 - 6000
Neutrófilos en banda o cayados	2 a 7	100 - 800

Trabajo a desarrollar por el alumno

1. Hacer la cuenta diferencial de su frotis y realizar los cálculos necesarios para obtener los valores absolutos de su muestra.
2. Hacer esquema de las diferentes formas de leucocitos encontrados.
3. Observar las características morfológicas de los eritrocitos en cuanto a forma y tamaño.
4. Anota el nombre, función y 3 características de los leucocitos observados.

RESULTADOS

CUESTIONARIO

1. ¿Cuáles son las diferencias entre un monocito y un linfocito?
2. Defina los conceptos que muestran las alteraciones de valores absolutos de los leucocitos, leucocitosis y leucopenia, linfocitosis y linfopenia, etc.
3. Escriba al menos dos ejemplos de patologías en donde se encuentren cifras bajas y altas de leucocitos?
4. ¿Qué es una desviación a la izquierda en una cuenta diferencial?
5. ¿Dónde se reproducen los linfocitos T y B?
6. ¿Qué diferencias hay entre un neutrófilo segmentado y un eosinófilo?

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS



PRACTICA No. 7 CUENTA TOTAL DE LEUCOCITOS

APRENDIZAJE ESPERADO

Analiza los parámetros de la serie blanca bajo los lineamientos de control de calidad y las buenas prácticas de laboratorio, para coadyuvar el diagnóstico clínico manteniendo la bioseguridad en el laboratorio clínico.

Aprendizajes esperados.

Analiza los parámetros de la serie blanca bajo los lineamientos de control de calidad y las buenas prácticas de laboratorio, para coadyuvar el diagnóstico clínico manteniendo la bioseguridad en el laboratorio clínico.

INTRODUCCIÓN.

El término leucocito incluye todas las células blancas de la sangre y sus precursores de los órganos productores, células mielocíticas (granulocíticas). Químicamente, los leucocitos se componen de agua (82%), fosfolípidos, nucleoproteínas, glucógeno, ácido láctico, fosfatasa alcalina y otras enzimas, histamina y pequeñas cantidades de sodio, potasio, zinc, magnesio, calcio y cloro, fósforo inorgánico y bicarbonato.

Los leucocitos pueden contarse en forma visual mediante el empleo de un microscopio, un hemocitómetro y una pipeta de Thoma. La técnica es similar a la del recuento de eritrocitos, pero la dilución típica es de 1:20 y el diluyente está formado por ácido acético que provoca la lisis de los eritrocitos; El número de total de leucocitos entre 4500 a 11500/ μ L. El recuento visual de leucocitos.

ha sido reemplazado en gran medida por equipos automatizados de hematología, pero es exacto y útil en situaciones en que no se dispone de esta automatización.

La disminución en el recuento de leucocitos (menos de 4500/ μ L se denomina leucopenia y el aumento del recuento (más de 11500/ μ L) se llama leucocitosis.

Hay muchas causas de leucocitosis: Infecciones agudas, intoxicaciones metabólicas (uremia, acidosis, toxemia gravídica, gota aguda) y otras (envenenamiento por químicos o venenos (mercurio, veneno de arácnidos y adrenalina); hemorragia aguda, hemólisis aguda, leucemias crónicas (leucemias agudas, policitemia vera), necrosis tisular(infarto de miocardio, necrosis de tumores, quemaduras, gangrena y necrosis bacteriana) y condiciones fisiológicas (Ejercicio, tensión emocional, trabajo de parto y menstruación).



Dentro de leucopenias pueden señalarse las infecciones bacteriana (septicemia, tuberculosis miliar, tifoidea, brucelosis, tularemia); infecciones virales (mononucleosis infecciosa, hepatitis, influenza, parotiditis, psitacosis); infecciones por rickettsias (tifo) y otras infecciones (paludismo, kala-azar). Algunos medicamentos pueden originar también leucopenia (sulfonamidas, antibióticos, analgésicos, mielosupresores, arsenicales, fármacos antitiroideo), así como las radiaciones ionizantes, algunos padecimientos hematológicos como la anemia perniciosa, ciertas leucemias agudas, la aplasia medular, el hiperesplenismo, la enfermedad de Gacher y el síndrome de Feltry, etcétera.

El hemocitómetro (Cámara de Neubauer)

La cámara de Neubauer está hecha de vidrio óptico especial de precisión, es de base rectangular y gruesa. En el tercio medio se hallan cuatro ranuras longitudinales y la superficie del puente central es más profunda que los dos puentes exteriores. En el puente central (fondo de la cámara) están grabadas las redes de conteo.

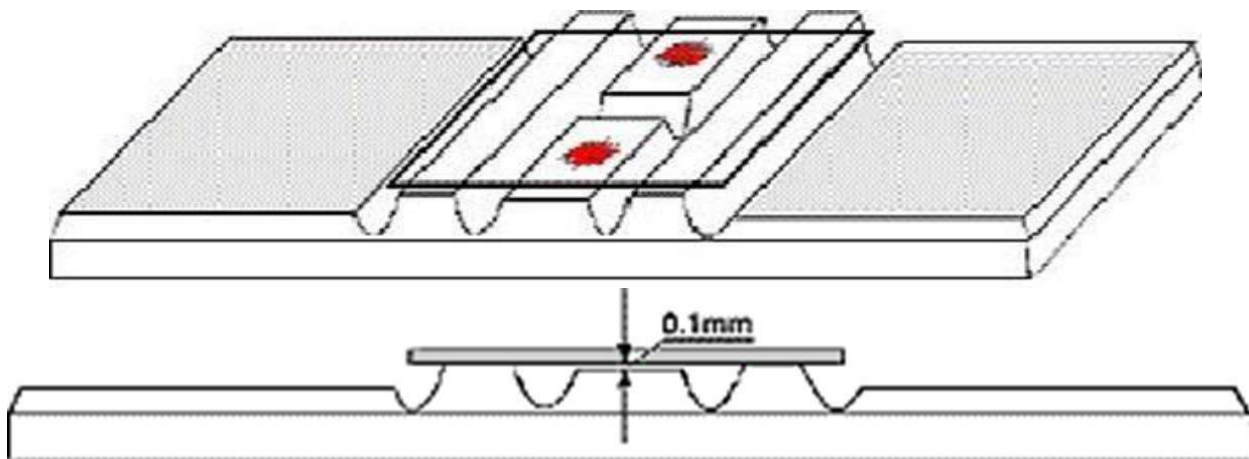


Fig. 1 Camara de Neubauer

Pipeta de Thoma para leucocitos

La pipeta de Thoma para leucocitos consiste en un tubo capilar graduado cuyas divisiones están separadas por un volumen de 0.5, 1 y 11. Tiene una ampolla para mezclar que contiene una perla blanca de vidrio.



Fig. 2 Pipeta de Thoma



FUNDAMENTO.

La muestra de sangre se diluye en solución de ácido acético y violeta de genciana. La solución hipotónica de ácido acético destruye a los eritrocitos. El violeta de genciana permite reconocer fácilmente el líquido y observar mejor los glóbulos blancos, a los que tiñe ligeramente

MATERIAL

- ❖ Pipeta de Thoma para leucocitos
- ❖ Gradilla para tubos de ensayo
- ❖ Torundas con alcohol al 70%
- ❖ Ligadura
- ❖ Papel absorbente
- ❖ Tubos al vacío con E.D.T.A

EQUIPO.

- ❖ Microscopio
- ❖ Agitador para pipetas de Thoma para leucocitos
- ❖ Contador manual o mecánico
- ❖ Equipo vacutainer
- ❖ Hemocitómetro (Cámara de Neubauer)

REACTIVOS.

Líquido de Turk

PROCEDIMIENTO

1. Una vez obtenida la muestra de sangre con anticoagulante E.D.T.A mezclar durante 2 minutos aproximadamente.
2. Con la boquilla de la manguera de hule conectada a la pipeta de Thoma, introducir el extremo libre de la pipeta en el tubo de sangre y aspirar la sangre hasta la marcada 0.5 (50 μ L). Evitar la formación de burbujas en el interior de la pipeta.
3. Limpiar el exceso de sangre en la superficie exterior de la pipeta con gasa o papel absorbente, el volumen de sangre debe permanecer en la marca 0.5. Si el volumen de sangre está por arriba de la marca 0.5; eliminar el exceso por contacto con la gasa o papel absorbente.
4. Con el extremo libre de la pipeta casi vertical; dentro del contenedor del líquido de Turk y aspirar lentamente hasta que alcance la marca 11. Dilución 1:20. Evitar la formación de burbujas.
5. Homogeneizar durante 2 minutos manualmente o en agitador mecánico para homogeneizar la dilución y completar la hemólisis de los glóbulos rojos.
6. Limpiar la cámara de recuento y el cubrehematímetro con un paño limpio que no deje pelusa. Puede utilizar etanol al 96%.
7. Colocar cuidadosamente el cubrehematímetro sobre la cuadrícula de la cámara quedando preparada para colocar la muestra.
8. Desconectar la pipeta de la tubería de hule y con el dedo índice obstruir el extremo superior de la pipeta para evitar la salida de la dilución.
9. Desechar las cuatro primeras gotas del contenido de la pipeta en papel absorbente.



10. Colocar el extremo inferior de la pipeta sobre el borde del área cuadrículada de la cámara; permitir el descenso de la dilución hasta llenar exactamente la cámara de Neubauer. Evitar mover el cubrehematimetro.

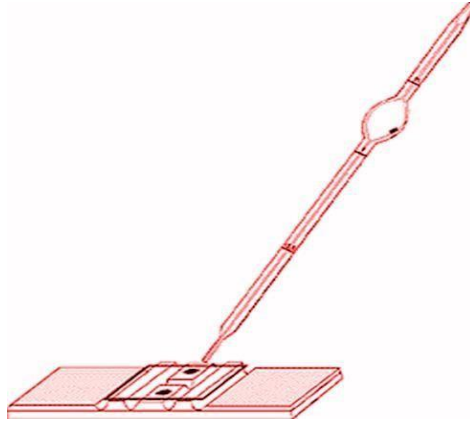


Fig. 3 Llenado de pipeta Thoma

11. Dejar en reposo la cámara por 1 minuto para permitir que los leucocitos se sedimenten.
12. Colocar la cámara sobre la platina y enfocar con el objetivo de bajo poder (10 X); los pequeños puntos oscuros corresponden a los glóbulos blancos.
13. Identificar en la cámara los cuatro cuadrantes donde se deberá realizar el conteo de leucocitos; comenzar con el cuadro superior izquierdo, hasta terminar con el cuadrante inferior derecho. Si hay células que lindan con los bordes exteriores del cuadro grande se cuentan las células que toquen la línea de en medio pero solamente en dos de los lados.

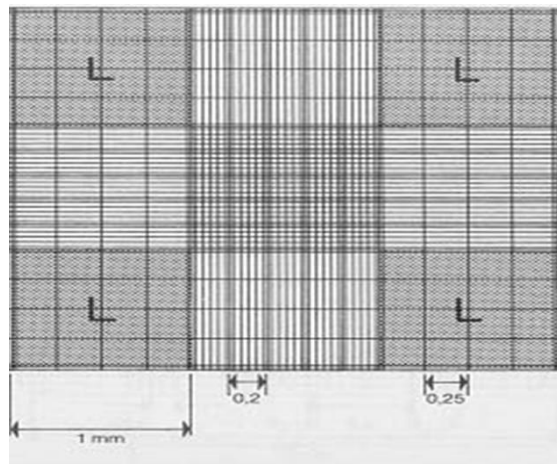


Fig. 4 Cuadrantes para la cuenta de Leucocitos

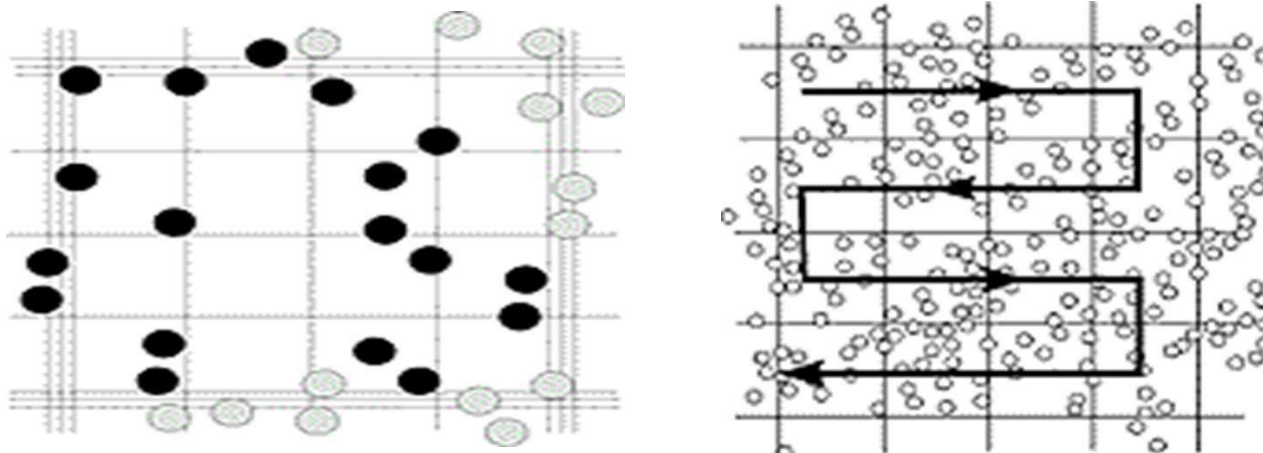


Fig. 5 Forma correcta de hacer el conteo

14. Calcule el número de leucocitos por milímetro cúbico como se indica a continuación.

$$\text{No. Globulos blancos mm}^3 = \frac{\text{No. GB} \times 20 \times 10}{4}$$

o bien $\text{No. GB} \times 50$

Donde:

No. GB: Cantidad de leucocitos en los 4 cuadros

20: Título de la dilución

10: Corrección de profundidad de la cámara para llevar a 1mm^3

4: Número de cuadros contados

Valores de referencia

Adultos: 4500 a 11000 $\times \text{mm}^3$

Trabajo a desarrollar por el alumno

1. Realiza el procedimiento para el conteo de leucocitos en cámara de Neubauer.
2. Realizar los cálculos correspondientes.
3. Elaborar una tabla por grupo de los resultados de cada equipo.
4. Interpretar el resultado obtenido.



RESULTADOS

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.

CUESTIONARIO.

1. Mencione la importancia que tiene el recuento de leucocitos en el diagnóstico clínico.
2. Escriba casos donde hay leucopenia.
3. Mencione otros métodos de laboratorio para el recuento de leucocitos
4. ¿Cuál es la función del ácido acético en el líquido de turk?
5. ¿Por qué se eliminan 3 o 4 gotas de la pipeta de Thoma de leucocitos?

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



Clave: AH-P8	Revisión: Julio 2023	Fecha de emisión: Agosto 2023	Página: 38 de 59
--------------	----------------------	-------------------------------	------------------

PRÁCTICA No. 8

CITOMETRÍA Y HEMOGRAMA

APRENDIZAJE ESPERADO

Realiza la Citología Hemática en base a la metodología establecida.

INTRODUCCIÓN

El resultado del análisis hematológico que forma lo que llamamos *Biometría Hemática (BH)*, *Hemograma* o *Citometría Hemática*, es una parte esencial de la descripción clínica de casi todas las enfermedades. Un número, una distribución normal de las células y una concentración de hemoglobina normal en la sangre tienen tanta importancia como constantes fisiológicas para poder diagnosticar una posible enfermedad. Para un diagnóstico diferencial, a menudo es útil saber que ciertas enfermedades no producen notables cambios en la sangre. Respecto a las enfermedades de la sangre y los órganos hematopoyéticos, cabe señalar que muchas veces el hallazgo de anomalías en los parámetros hematológicos más usuales (descenso de la cifra de hemoglobina, leucocitosis, VSG acelerada) no traduce la existencia de una enfermedad de la sangre, sino de otro órgano o sistema que, de forma secundaria, produce tales alteraciones.

La Citometría Hemática o Biometría Hemática; es una prueba de laboratorio clínico que comprende la determinación de varios parámetros como hemoglobina, hematocrito, glóbulos rojos, glóbulos blancos, etcétera. En la mayoría de los hospitales, la Citología Hemática consiste en la determinación:

- Fórmula roja: Recuento de eritrocitos y plaquetas, determinación de Hb, Hto, Índices Eritrocitarios y Amplitud de Distribución Eritrocitaria (ADE) en los equipos automatizados.
- Fórmula blanca: Recuento total de leucocitos y cuenta diferencial.

La Citología Hemática tiene una gran importancia; ya que, además de ser utilizada como procedimiento de rutina constituye una gran ayuda para el diagnóstico de muchas afecciones. Sirve de indicador de los progresos del paciente en algunos estados patológicos, como infecciones y anemias.

FUNDAMENTO

Aunque a veces la presencia de anemia, leucemia, defectos cuantitativos y/o cualitativos de las plaquetas u otro tipo de trastornos, se pueden sospechar por interrogatorio y exploración física. La *citometría Hemática* es una medición mucho más definitiva del estado de los tejidos formadores de sangre.

**Material:**

- Gradilla
- Tubos al vacío con EDTA
- Torniquete (ligadura)
- Aguja para toma múltiple (Vacutainer)
- Soporte para el sistema Vacutainer
- Torundas de algodón humedecidas en isopropanol al 70 %

Equipo:

- Homogeneizador de laboratorio para sangre
- Analizador automatizado de Hematología

PROCEDIMIENTO.

1. Realizar las diferentes determinaciones que comprenden una Citología Hemática en el equipo automatizado
2. Anotar los resultados obtenidos en cada una de las pruebas realizadas, así como las fórmulas y unidades correspondientes a cada una.

Trabajo a desarrollar por el alumno

1. Investiga el fundamento de equipo automatizado Analizador Automatizado de Hematología
2. Registrar resultado en la hoja anexa
3. Interpretar los resultados obtenidos

RESULTADOS**CUESTIONARIO**

1. ¿Qué es una Citología Hemática?
2. Menciona los parámetros que incluye una Citología Hemática completa.
3. ¿Qué importancia tiene la Citología Hemática en el diagnóstico clínico?

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



Clave: AH-P 9	Revisión: Julio 2023	Fecha de emisión: Agosto 2023	Página: 40 de 59
---------------	----------------------	-------------------------------	------------------

PRÁCTICA No. 9

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE CÉLULAS INMADURAS EN SANGRE PERIFÉRICA

COMPETENCIA: Conocer las diferentes características morfológicas de las células inmaduras hematopoyéticas presentes en sangre periférica mediante la elaboración de frotis sanguíneos de muestras patológicas y su consulta con un atlas de hematología para su clasificación e identificación de diagnósticos sospechosos de patologías de la sangre.

INTRODUCCIÓN

Línea Eritroide: Las células de la línea eritroide tienen una proporción de cerca del 25% de todas las células en la médula ósea, guardando una relación gránulo/eritroide de 3:1. Todas las células hematopoyéticas se encuentran localizadas en forma de cordones cerca de los senos vasculares. Para el caso de los precursores eritroblásticos estos se encuentran contra la superficie externa de los capilares sinusoides, en grupos bien diferenciados llamados islas eritroblásticas (unidad anatómica de la eritropoyesis), formadas por uno o dos macrófagos centrales rodeados de eritroblastos; este macrófago proporciona los nutrientes requeridos para la maduración de los eritrocitos, los cuales van alejándose del cuerpo principal hacia la periferia de los macrófagos, conforme maduran. La maduración inicia a partir del proeritroblasto, el cual genera 2 eritroblastos basófilos, los cuales se dividen en 4 eritroblastos basófilos de 1° generación, estos generan 8 eritroblastos basófilos de 2° generación, que después de una última división mitótica se transforman en 16 eritroblastos policromatófilos, los cuales ya no se dividen y se transforman en eritroblastos ortocrómicos, que al expulsar su núcleo originan 16 reticulocitos, los cuales permanecen 48 a 36 horas en la médula ósea antes de salir a torrente sanguíneo y madurar hasta eritrocitos en un periodo de 24 horas.

Debe señalarse que, aunque cada proeritroblasto puede generar 16 eritrocitos, esto no sucede casi nunca en la realidad, debido a la existencia de un mecanismo de eritropoyesis ineficaz fisiológico, genera solo 8 eritrocitos.



Los cambios bioquímicos y morfológicos que ocurren en el interior de los eritrocitos durante su maduración se basan principalmente en la pérdida progresiva de la intensa basofilia del citoplasma y la compactación de la cromatina del núcleo hasta generar un núcleo picnótico que es expulsado del eritrocito por la formación de una especie de anillo constrictor. La basofilia del citoplasma en las etapas más jóvenes del eritrocito se debe a la intensa producción de ribosomas para iniciar la síntesis de globinas, las cuales van ensamblando la hemoglobina a medida que madura el eritrocito y por tanto al aumentar su cantidad en el citoplasma disminuye la basofilia del mismo por la propiedad acidófila de la hemoglobina. El color grisáceo del citoplasma del eritroblasto policromatófilo se debe a que la cantidad de ribosomas y hemoglobina se encuentra equilibrada dando ese aspecto sucio a la célula. Ocurre algo similar con los reticulocitos, pues al perder el núcleo permanecen restos de ribosomas y retículo, que sólo son visibles con una tinción supravital de azul de metileno, sin embargo, con la tinción de Wright obtienen un color grisáceo por contener material basófilo y acidófilo en su citoplasma.

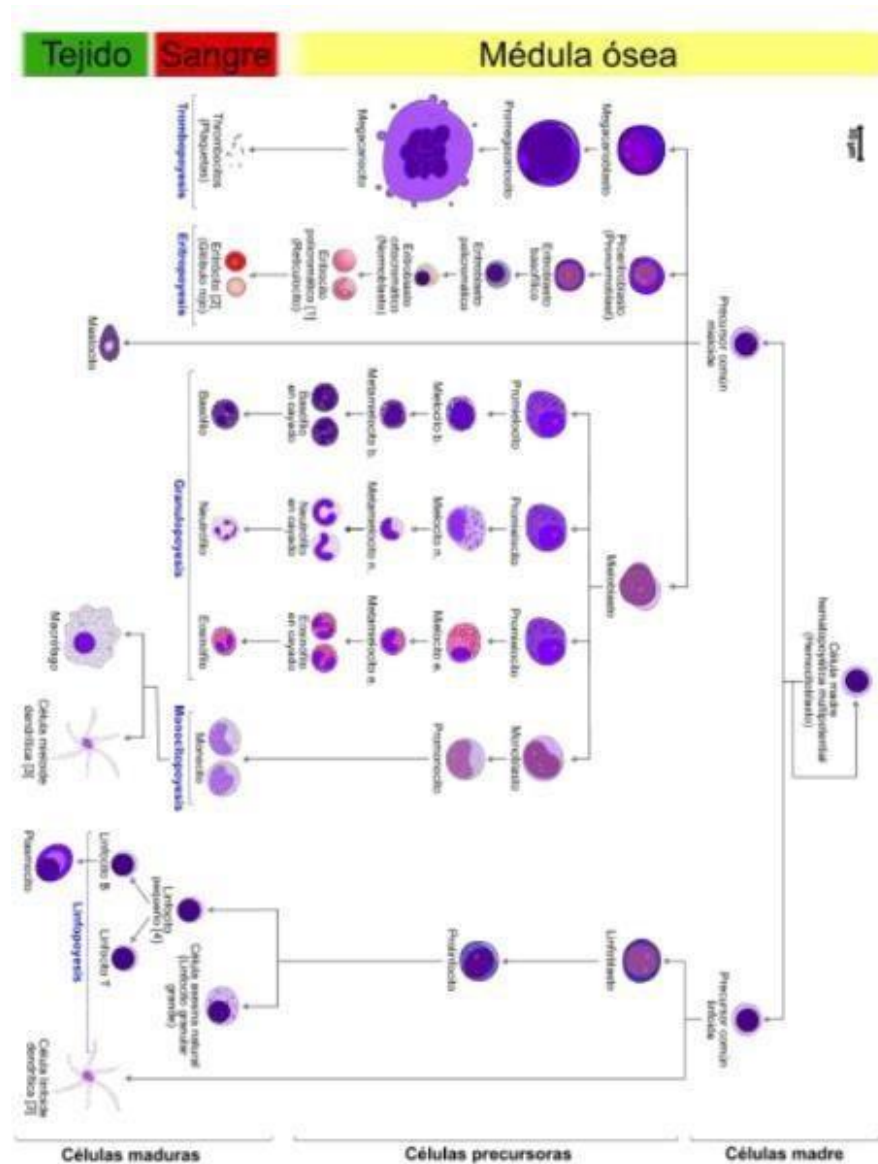
Línea Mieloide (Granulocitos, Monocitos y Megacariocitos)

Línea granulocítica

Línea Eritroide

NOMBRE	MORFOLOGIA	TAMAÑO (μ)	NUCLEOS
Proeritroblasto		20-25	Redondo, cromatina laxa
Eritroblasto basófilo		16-18	Redondo, engrosamiento de cromatina
Eritroblasto policromatófilo		12-15	Redondo, cromatina irregular y burda
Eritroblasto ortocrómico		10-15	Picnótico
Reticulocito		8-10	Ausente
Eritrocito		7-7.5	Ausente

Línea Linfocítica



Las células de la granulopoyesis constituyen un 60-65% de los componentes citológicos medulares. Los cambios morfológicos evolutivos se resumen en:

- Reducción de la relación núcleo-citoplasma.
- Desaparición de los nucléolos.
- Maduración de la cromatina nuclear.



- Desaparición de la basofilia citoplasmática.
- Aparición de la granulación primaria azurófila a partir del promielocito. En esta última etapa es imposible distinguir con tinciones de Romanowsky si la célula dará origen a un neutrófilo, un eosinófilo o un basófilo; sin embargo, cada promielocito ya está comprometido hacia alguna de estas líneas celulares.
- Aparición de la granulación secundaria o específica (neutrófilo, eosinófilo y basófilo) a partir del mielocito. Reconocibles morfológicamente por tinciones de Romanowsky.

La primera célula de la serie granulopoyética identificable morfológicamente es el mieloblasto, el cual da origen al promielocito, y éste al mielocito, metamielocito, banda y finalmente al segmentado. Existen 4 etapas mitóticas entre el mieloblasto y el metamielocito, a partir de esta etapa ya no hay divisiones celulares. Por último, tiene lugar la indentación y segmentación nuclear al llegar a la etapa de metamielocito y segmentado, respectivamente.

Todo el proceso de granulopoyesis ocurre entre 4 y 7 días. Las principales alteraciones morfológicas que ocurren en la serie neutrófilica se engloban en :

- Alteraciones de la granulación.
- Inclusiones citoplasmáticas.

Eosinófilos: Tienen un tamaño semejante a los neutrófilos y se caracterizan morfológicamente por contener en su citoplasma gránulos acidófilos. Tienen una forma redondeada, su tamaño oscila entre 0,5 y 1,5 μm , ocupan todo el citoplasma de la célula, pero no se superponen en el núcleo y se tiñen de color anaranjado-pardo brillante con las tinciones panópticas, siendo muy frágiles. El núcleo en la etapa final de segmentado solamente alcanza la bilobulación simétrica y en una proporción muy escasa el eosinófilo puede llegar a formar tres lóbulos perfectamente simétricos unidos por finos puentes de cromatina.

Basófilos: La maduración de estas células aún no está muy bien esclarecida como en el caso de las otras células sanguíneas, sin embargo, se sabe que derivan de una célula germinal comprometida hacia la granulopoyesis basófila. A diferencia de los basófilos tisulares o mastocitos, son células redondeadas cuyo tamaño oscila entre 10 y 13 μm . El núcleo de cromatina densa posee generalmente dos o tres lóbulos unidos por puentes cromatínicos, en ocasiones difíciles

FUNDAMENTO

Las células progenitoras de la serie roja y blanca y todos sus fases de células inmaduras normalmente se encuentran en médula ósea, pero en ciertas patologías como leucemias, anemias u otras alteraciones celulares anormales en médula ósea provocan el paso de estas a sangre periférica antes de su maduración, haciéndose presente una nueva morfología de células inmaduras en sangre periférica de pacientes con diferentes patologías, las cuáles requieren ser identificadas en el área de análisis clínicos hematológicos mediante la observación de un frotis sanguíneo por medio de sus características morfológicas para su diagnóstico presuncional.



Material de laboratorio

1 pipeta pasteur con bulbo
10 portaobjetos
Gradilla
Puente de tinción
Equipo vacutainer/agujas
Gradilla
Ligadura o tubo látex

Equipo

Microscopio
Contador mecánico

Reactivos

Colorante de Wright
Torundas con alcohol al 70%
Aceite de inmersión
Solución Buffer de fosfatos

MATERIAL BIOLÓGICO: Muestras Sanguíneas de pacientes con enfermedades patológicas de la sangre.

MATERIAL DE APOYO: Atlas de hematología, líneas hematopoyéticas, Frotis sanguíneos patológicos.

DESARROLLO:

Tinción de Wright

- Hacer un frotis sanguíneo.
- Colocarlo sobre el puente de tinción.
- Al frotis se le agrega colorante de Wright cubriendo toda la extensión.
- Inmediatamente después se le agrega el buffer, dejando reposar de 5 a 10 minutos. También se puede agregar los reactivos por separado, primero el colorante de Wright durante 10 minutos, cubriendo totalmente la extensión y posteriormente la solución buffer durante 8 minutos. El tiempo para la tinción va a depender de la madurez del colorante, entre más maduro menor es el tiempo de tinción.
- Con la pipeta Pasteur soplar a la muestra para mezclar el colorante de Wright y la solución buffer
- Lavar a chorro de agua procurando no dañar la película de sangre.
- Dejar secar el frotis teñido a temperatura ambiente limpiando el excedente de colorante de la parte posterior con una torunda de alcohol.
- Enfocar con el objetivo de 10X y observar al microscopio con el objetivo de inmersión (100X).

Trabajo a desarrollar por el alumno

1. Realizar un Frotis sanguíneo y teñirlo con el colorante de Wright.
2. Observar el Frotis al microscopio a 10X, 40X y 100X.
3. Identificar las características morfológicas y tintoriales de las células inmaduras encontradas.
4. Hacer esquemas e imágenes claras de las células inmaduras de todas las líneas hematopoyéticas y reportar las características morfológicas e identificarlas en los esquemas.



RESULTADOS:

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS. (Señalar características morfológicas de las diferentes estirpes de células inmaduras presentes)

CUESTIONARIO.

1. ¿Cuánto tiempo permanecen los reticulocitos en médula ósea antes de salir a torrente sanguíneo y madurar?
2. En esta célula granulopoyética el núcleo en la etapa final de segmentado solamente alcanza la bilobulación simétrica y en una proporción muy escasa puede llegar a formar tres lóbulos:
3. Escriba dos patologías donde existan proeritroblastos y eritroblastos:
4. Mencione otro método de diagnóstico de laboratorio para la búsqueda de presencia de células inmaduras propias de médula ósea circundantes en sangre periférica:

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



Clave: AH-P10	Revisión: Julio 2023	Fecha de emisión: Agosto 2023	Página: 46 de 59
---------------	----------------------	-------------------------------	------------------

PRÁCTICA No. 10 CUENTA DE PLAQUETAS

APRENDIZAJE ESPERADO:

Realiza el recuento de plaquetas por el método directo e indirecto en una muestra de sangre.

INTRODUCCIÓN Las plaquetas o trombocitos, se desprenden del citoplasma de los megacariocitos adultos. Son los elementos formes más pequeños (1 a 4 micras) y están desprovistas de núcleo, por lo que no se trata de verdaderas células, sino fragmentos celulares. En los frotis se observan a menudo aglomeradas, debido a su gran capacidad de agregación. La vida media de las plaquetas es aproximadamente de 8 a 11 días. En sangre periférica las plaquetas se observan en forma discoidal, ovalada, redondeada o fusiforme y de superficie lisa. Las plaquetas intervienen fundamentalmente en varios aspectos de la hemostasia. Forman los llamados tapones hemostáticos primarios y participan en la hemostasia secundaria. En ocasiones, el recuento de plaquetas puede dar falsos resultados por su agregación debido a las condiciones de extracción de la muestra; de modo que la lectura del contador da un número bajo de plaquetas de gran tamaño.

FUNDAMENTO Las plaquetas diluidas con solución de oxalato de sodio, adquieren una tonalidad brillante, se cuentan al microscopio montadas en la cámara de Neubauer.

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS:

Material de laboratorio

Equipo Tubos de ensaye de 13X100 mm Microscopio.
1 Pipeta Pasteur con bulbo.
Contador mecánico 10 portaobjetos.
Agitador para pipetas de Thoma Puente de tinción Reactivos.
2 Cámaras de Neubauer Solución Buffer de fosfatos.
2 pipetas de Thoma para glóbulos rojos.
Oxalato de amonio.
2 Cajas de petri.
Colorante de Wright.
Gradilla Aceite de inmersión.
Equipo vacutainer.
Torundas con alcohol al 70%.
Ligadura o tubo látex.
Franela, Papel absorbente.
Boquilla, Papel filtro.



PROCEDIMIENTO

Método directo

1. Homogeneizar la muestra y llenar una pipeta de Thoma para glóbulos rojos hasta la marca de 0.5.
2. Limpiar el excedente de sangre y llenar con líquido diluyente (oxalato de amonio al 1%) hasta el aforo de 101, evitando la formación de burbujas.
3. Homogeneizar la dilución manualmente o en agitador mecánico por 2 minutos.
4. Desechar de 3 a 5 gotas.
5. Cargar la cámara de Neubauer por ambos extremos.
6. Dejar reposar 15 minutos dentro de una caja de petri con papel húmedo para evitar la desecación (cámara húmeda).
7. Contar el número de plaquetas en todo el cuadro central.
8. El número de plaquetas se calcula por medio de la siguiente fórmula:

$$\text{Plaquetas/mm}^3 = \text{No. plaquetas contadas} \times 2000$$

Método indirecto o de Fonio

1. Realizar frotis sanguíneo en portaobjetos y se deja secar al aire.
2. Teñir con colorante de Wrigth o Giemsa.
3. Enjuagar con agua corriente y dejar secar al medio ambiente.
4. Contar 1000 eritrocitos y simultáneamente las plaquetas que se encuentran entre estos.
5. El número de plaquetas contadas, se relacionan con el número total de eritrocitos contenidos en 1 mm cúbico de sangre. El número de glóbulos rojos se obtiene realizando un micro hematocrito.
6. Para calcular el número de plaquetas por mm se aplica la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Plaquetas}}{\text{■}} \text{mm}^3 = \text{No. plaquetas contadas} \times \text{No. G. R. (Cifras normales en mm}^3)$$

Si en el campo observado se presentan grumos de plaquetas, podemos afirmar que su número no está por debajo de lo normal ya que hay una cantidad suficiente de estos elementos para permitir su agregación.

VALORES DE REFERENCIA:

150 000 a 450 000 plaquetas por mm³.

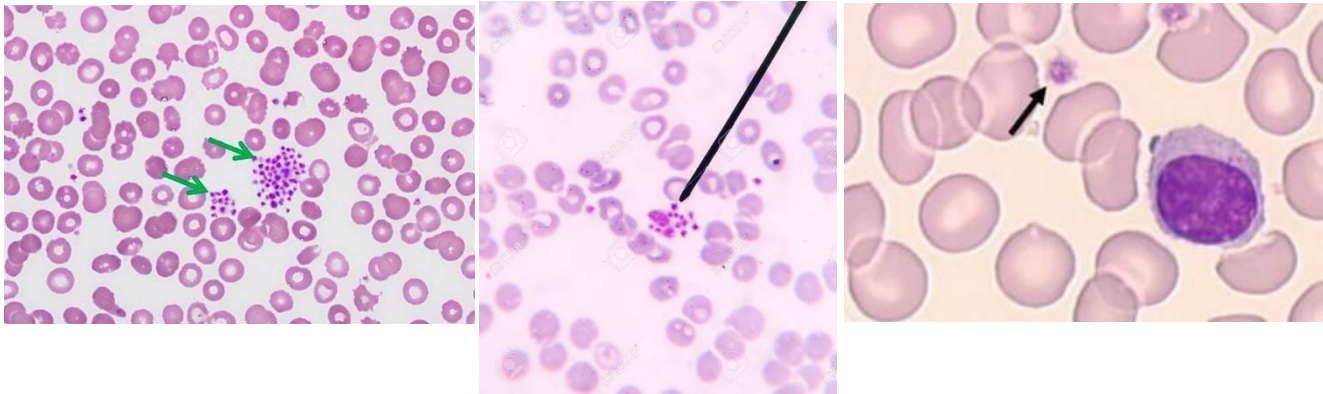


Fig. Plaquetas en frotis sanguíneo

TRABAJO A DESARROLLAR POR EL ALUMNO.

1. Hacer la cuenta de plaquetas por ambos métodos y anotar sus resultados.
2. Hacer un esquema de las plaquetas observadas en ambos métodos.
3. Observar las características morfológicas de los eritrocitos en cuanto a forma y tamaño.
4. Hacer una tabla de resultados por grupo.
5. Interpretar el resultado.

RESULTADOS

INTERPRETACION DE RESULTADOS

CUESTIONARIO

1. ¿Qué importancia tiene el recuento de plaquetas?
2. Menciona el concepto de trombocitosis.
3. Menciona tres funciones de las plaquetas.
4. Mencione los términos que se le da al aumento y disminución de plaquetas.
5. ¿Qué ventajas y desventajas tiene el método directo con respecto al método indirecto para el recuento de plaquetas

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS



Clave: AH-P11	Revisión: Julio 2023	Fecha de emisión: Agosto 2023	Página: 49 de 59
---------------	----------------------	-------------------------------	------------------

PRÁCTICA NO. 11 TIEMPO DE SANGRADO.

APRENDIZAJES ESPERADOS.

Explica manifestaciones clínicas, pruebas y alteraciones en la hemostasia mediante técnicas de análisis hemostático para la identificación de posibles causas de patologías

INTRODUCCIÓN.

Tiempo de sangrado (TS).

El tiempo de sangrado se define como el tiempo entre la realización de una pequeña incisión en la piel que produce sangrado y el momento en que éste se detiene.

El tiempo de sangrado mide la interacción de las plaquetas con la pared de los vasos sanguíneos y la subsecuente formación del coágulo. Por lo tanto, el tiempo de sangrado mide las etapas tempranas de la hemostasia: las fases vascular y plaquetaria. Un tiempo prolongado se presenta por varias razones: cuando hay inflamación de los vasos (vasculitis), cuando el nivel de plaquetas circulantes disminuye, cuando la función de las plaquetas no es la adecuada o cuando las plaquetas no pueden interactuar con las paredes de los vasos sanguíneos. El tiempo de sangrado puede prolongarse también cuando existe una disminución o anomalía en ciertos factores plasmáticos que intervienen en la adhesividad y agregación plaquetarias, como el factor de von Willebrand, el fibrinógeno o el factor V.



Fig. Tiempo de sangrado



FUNDAMENTO.

Tiempo de sangrado (Método de Duke)

La lesión estandarizada de un número pequeño de capilares, nos permite observar la retracción del capilar, la cantidad y calidad de las plaquetas, al medir el tiempo en cesar la hemorragia. Se efectúa una punción a través de la piel del lóbulo de la oreja o del antebrazo y se mide exactamente el tiempo durante en el que sangra.

MATERIAL.

1. Lancetas.
2. Papel filtro
3. Torundas con alcohol al 70%
4. Cronómetro.

DESARROLLO:

1. Dar masaje suave en el lóbulo de la oreja, limpiar con alcohol al 70% y dejar secar.
2. Con una lanceta esteril y desechable hacer una punción capilar de 3mm de profundidad en el lóbulo de la oreja (con movimiento rápido y firme). Tan pronto como se realice la punción capilar se pone en marcha el cronómetro.
3. Permitir que la sangre salga de la herida sin presión, absorbiendo la sangre con papel filtro sin tocar la piel cada 15 segundos hasta que cese la hemorragia (esta maniobra es para evitar que se forme un coágulo en la gota de sangre sobre la herida).
4. Cuando el papel filtro ya no absorba sangre, detener el cronómetro y registrar el tiempo

VALORES DE REFERENCIA:

De 1 a 3 minutos.

TRABAJO A DESARROLLAR POR EL ALUMNO

1. Realizar las pruebas: Tiempo de sangrado, Tiempo de Coagulación y Prueba del torniquete de acuerdo a la metodología propuesta.
2. Elaborar un cuadro de resultados por grupo.



RESULTADOS.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.

CUESTIONARIO.

1. ¿Cuál es el tiempo de vida de las plaquetas?
2. ¿Cómo es el tiempo de sangrado en la hemofilia?
3. ¿Cómo serían los resultados de las pruebas de coagulación si los tubos al vacío se llenan con menos sangre?
4. ¿Cuál sería el efecto en las pruebas de hemostasia si la muestra está hemolizada?
5. Defina los siguientes conceptos: Hematoma, petequia y hemartrosis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.



Clave: AH-P12	Revisión: Julio 2023	Fecha de emisión: Agosto 2023	Página: 52 de 59
---------------	----------------------	-------------------------------	------------------

PRÁCTICA NO. 12 TIEMPOS DE COAGULACIÓN

APRENDIZAJES ESPERADO.

Explica manifestaciones clínicas, pruebas y alteraciones en la hemostasia mediante técnicas de análisis hemostático para la identificación de posibles causas de patologías

INTRODUCCIÓN.

Hemostasia.

La hemostasia es un proceso por el cual cesa la hemorragia. El proceso completo se asocia con el control de la hemorragia de un vaso sanguíneo traumatizado y el cese final de la hemorragia. La hemostasia es un mecanismo dinámico complejo caracterizado por una serie de fenómenos físicos y bioquímicos que originan la producción fisiológica de un trombo o coágulo que obtura el vaso lesionado. Cuando hay una lesión vascular, la hemostasia se activa de inmediato para impedir la hemorragia. En primera instancia hay una vasoconstricción e inmediatamente se forma el coágulo plaquetario que necesita una malla de fibrina que le de firmeza. La hemostasia se divide en hemostasia primaria, cierre inmediato de la lesión por vasoconstricción y activación plaquetaria sin que se forma fibrina y hemostasia secundaria, formación de fibrina por medio de la fase fluida y cuya función es hacer más estable el coágulo. En la fase fluida, el fibrinógeno plasmático soluble se convierte en fibrina insoluble mediante la trombina. La formación de trombina depende de dos vías o cascadas hemostáticas. La vía extrínseca se activa si la sangre se pone en contacto con los tejidos ya que el único factor localizado fuera de la sangre es el FT. En la vía intrínseca los factores están en la sangre y se activa aun sin tocar tejido extrasanguíneo al contacto del FXII con superficies extrañas al vaso.

La diferencia entre las vías radica en cómo activan al FX ya que, luego de activarlo, siguen una vía común que activa a la protrombina.

La vía extrínseca

Inicia realmente la fase fluida mientras que la intrínseca mantiene y amplifica la formación de fibrina. La hemostasia comienza cuando el FT del subendotelio o de células no vasculares hacen contacto con la sangre. El FT se une inmediatamente al FVII convirtiéndose en FVIIa. Este complejo FT-FVIIa activa al FX, el cual genera trombina a partir de FII. En el FX convergen las vías intrínseca y extrínseca. El FX se activa por complejo FT-FVIIa.



La vía intrínseca.

Se inicia in vitro al contacto de la sangre con células no hemáticas o con superficies extrañas al vaso. Comienza en la fase de contacto, serie de reacciones entre cuatro proteínas plasmáticas (FXI, FXII, PK y CAPM), que convierte al FXI en FXIa. Éste genera FIXa, el cual, en presencia de calcio, fosfolípidos y FVIIIa, convierte al FX a FXa. El FIX es un factor deficiente en la hemofilia B. Cuando el FIXa (enzima) hace un complejo con el FVIIIa (cofactor), calcio y fosfolípidos (complejo diezasa o tenasa), convierte al FX en FXa.

Trombina y la formación de fibrina.

El FII se convierte en trombina al final de la fase fluida por el FXa. El efecto del FXa se acelera 300000 veces en presencia de FVa, fosfolípidos y calcio (complejo protrombinasa). La trombina transforma al fibrinógeno en fibrina y luego la estabiliza al activar a FXIII.

Tiempo de protrombina (TP)

Esta prueba estudia la vía extrínseca, ya que para iniciarla se utiliza un activador tisular que normalmente es “extrínseco” a la circulación. Se prolonga cuando las concentraciones del factor VII disminuyen, así como en las alteraciones de la vía común (factores X, V, protrombina y fibrinógeno). El tiempo de protrombina normal tiene un promedio de 12 a 14 segundos. En la actualidad se ha incorporado al resultado de este estudio un valor (INR) que se obtiene del tiempo en segundos en que se informa el estudio y un factor que varía de acuerdo con el reactivo utilizado y que proporciona el fabricante.

Tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa)

El TTPa mide los factores de coagulación intrínsecos (XII, XI, IX y VIII) y los factores de la vía común. El término “tromboplastina parcial” se refiere a la adición de fosfolípidos sin factor tisular, es decir, una parte o “tromboplastina parcial”. Se denomina “activada” cuando se añade un activador de contacto, simulando una lesión del endotelio vascular, con carga de superficie negativa como el caolín. El TTPa normal tarda un promedio de 35 a 42 segundos en formar fibrina. Si se prolonga más de diez segundos es anormal para la mayoría de los reactivos y representan el punto en el cual se cuenta con 30% o menos de la cantidad de un factor dado.

La hemofilia suele detectarse por prolongación del TTPa en un paciente con TP normal. Las cinco causas más comunes de un TTPa prolongado son: CID, enfermedad hepática, transfusión masiva con sangre almacenada, administración de heparina o contaminación de la muestras con la misma, presencia de un anticoagulante o inhibidor circulante como el anticoagulante lúpico.

Estandarización Internacional del TP

Actualmente a muchos pacientes se les administra anticoagulantes orales en el tratamiento y profilaxis de trastornos tromboticos. El monitoreo de pacientes anticoagulados se hace en base al tiempo de protrombina. El TP es una prueba que requiere de extractos tisulares llamados tromboplastinas. Las fuentes tisulares tienen una procedencia muy variada y esto trae como consecuencia la variación de la sensibilidad y la variación del propio tiempo de Protrombina y dadas estas circunstancias se ha buscado una escala común en la que se pueda reportar el TP basado en un sistema de referencia.



FUNDAMENTO.

Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPa).

Se agrega al plasma descalcificado cloruro de calcio y un concentrado de fosfolípidos hísticos o plaquetarios, debiendo coagular esta muestra en menos de 45 segundos, si existe integridad en los factores que intervienen en la vía intrínseca de la primera fase de la coagulación.

Tiempo de protrombina (Técnica de Quick).

Se valora principalmente la segunda fase de la coagulación, en virtud de que la protrombina es el precursor inactivo de la trombina, enzima proteolítica activa. Al plasma descalcificado se agrega cloruro de calcio y una tromboplastina comercial, observándose el tiempo de coagulación.

Material:

Gradilla para tubos de ensayo
Cinco tubos de ensayo de 13 X 75 mm
Pipeta Pasteur con bulbo
Tubo al vacío con citrato de sodio al 3.8% (tapón de color azul)
Equipo vacutainer.
Torundas con alcohol al 70%
Ligadura o tubo látex

Equipo:

- Baño maría eléctrico
- Termómetro
- Cronómetro

Reactivos:

Reactivo para TP y TTPa

Tiempo de protrombina(TP)

1. Obtener una muestra de sangre en un tubo al vacío con tapa de color azul que contiene anticoagulante de citrato de Sodio al 3.8 %
2. Centrifugar la muestra de sangre a 3500 r.p.m y separar el plasma en tubos de vidrio siliconado o plástico.
3. Precalentar a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ la cantidad necesaria de reactivo de Tromboplastina y la muestra durante no más de 10 min.
4. Mezclar en tubos de vidrio de 13x75mm 200 μl de reactivo precalentado con 100 μl de plasma citrado precalentado.
5. Empezar a contar en el momento de la mezcla
6. Con un aplicador de madera agite el tubo dentro del baño de agua durante 2 a 3 segundos, después déjelo reposar hasta los 10 seg.
7. En seguida examine el tubo hasta que aparezca el coágulo, en este momento pare el cronómetro y anote el tiempo transcurrido.
8. Se repite el procedimiento para que se obtengan por lo menos dos registros para cada problema y muestra control. La medida de los dos tiempos equivalen al tiempo de protrombina de la muestra.



Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPa)

1. Obtener una muestra de sangre en un tubo al vacío con tapa de color azul que contiene anticoagulante de citrato de Sodio al 3.8 %
2. Centrifugar la muestra de sangre a 3500 r.p.m y separar el plasma en tubos de vidrio siliconado o plástico.
3. Incubar a baño maría a 37°C la tromboplastina parcial activada, el Cloruro de calcio 0.02M y la muestra de plasma.
4. Colocar en un tubo 100 microlitros de plasma y 100 microlitros de tromboplastina parcial activada
5. Mezclar bien e incubar 5 minutos a 37°C.
6. Adicionar 0.1 mL. de Cloruro de Calcio 0.02 M, iniciar el conteo del tiempo en el cronómetro; a los 20 segundos observar cuidadosamente la muestra removiendo con un aplicador para el cronómetro hasta la aparición de los primeros hilos de fibrina.

VALORES DE REFERENCIA.

TTPa: Menos de 45 segundos.

TP: De 12 a 13 segundos

Trabajo a desarrollar por el alumno

1. Determinar el TP y TTP de la muestra obtenida
2. Calcular el INR del TP
3. Elaborar un cuadro con los resultados obtenidos por grupo.
4. Anotar al final la bibliografía de consulta.

Para calcular el INR se utiliza la siguiente fórmula

$$INR = (TP \text{ paciente en segs} / TP \text{ normal en segs})^{ISI}$$

RESULTADOS

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

CUESTIONARIO

1. ¿Cuál es la función de la hemostasia?
2. ¿Cuáles son las pruebas más importantes para evaluar la hemostasia?
3. ¿Cuál es la vía de la coagulación afectada en la hemofilia?



4. ¿Cuál es la manifestación clínica más frecuente en la hemofilia
5. ¿Cuál es el orden de llenado de los tubos al vacío para la toma de sangre cuando se realizan varias pruebas incluyendo las de coagulación?

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:



HOJA DE RESULTADOS



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO DE ESTUDIOS CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS NO. 15
“DIÓDORO ANTÚNEZ ECHEGARAY “



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO DE ESTUDIOS CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS N.15
“DIÓDORO ANTÚNEZ ECHEGARAY
FORMATO PARA EL REPORTE DE PRACTICA



HOJA DE REPORTE HEMATOLÓGICA

Nombre de la Práctica
 Nombre del Alumno: No de Equipo

DATOS DEL PACIENTE:

Nombre
 Edad Sexo Fecha
 Diagnóstico

RESULTADOS

FORMULA ROJA

VALORES DE REFERENCIA

1. Hto	%	_____
2. Hb	g/dl	_____
3. G.R	$10^6/\text{mm}^3$	_____
4. V.S.G	mm/hora	_____
5. Reticulocitos	%	_____
6. Plaquetas	$/\text{mm}^3$	_____
7. V.G.M.	fl	_____
8. H.C.M.	pg	_____
9. C.M.H.G	%	_____

FORMULA BLANCA

10. G.B $/\text{mm}^3$ _____
 11. Cuenta Diferencial:

VALORES ABSOLUTOS %

VALORES REFERENCIA

Neutrófilos	%	_____ $/\text{mm}^3$	_____
Linfocitos	%	_____ $/\text{mm}^3$	_____
Monocitos	%	_____ $/\text{mm}^3$	_____
Eosinófilos	%	_____ $/\text{mm}^3$	_____
Basófilos	%	_____ $/\text{mm}^3$	_____
Bandas	%	_____ $/\text{mm}^3$	_____
Otros	%	_____ $/\text{mm}^3$	_____

PRUEBAS DE COAGULACIÓN

1. Tiempo de Sangrado (Método de Duke): min. segundos
2. Tiempo de Coagulación (Método Capilar): min segundos
3. Retracción del Coágulo %
4. Tiempo de Coagulación:
 - a) Plasma Pobre en Plaquetas segundos
 - b) Plasma Rico en Plaquetas segundos
5. Tiempo de Protrombina (T.P.):
 - a) segundos
 - b) R/P
 - c) IRN (Valor de ISI:_)
6. Tiempo de Tromboplastina Parcial (T.T.P.) segundos
7. Tiempo de Trombina (T.T.) segundos

Nombre y Firma del responsable _____



RESULTADOS

Cálculos/Gráficos/Esquemas/Tablas

Interpretación de Resultados