



Universidad
Continental

Hematología Especial

Guías de Laboratorio



Visión

Ser una de las 10 mejores universidades privadas del Perú al año 2020, reconocidos por nuestra excelencia académica y vocación de servicio, líderes en formación integral, con perspectiva global; promoviendo la competitividad del país.

Misión

Somos una universidad privada, innovadora y comprometida con el desarrollo del Perú, que se dedica a formar personas competentes, íntegras y emprendedoras, con visión internacional; para que se conviertan en ciudadanos responsables e impulsen el desarrollo de sus comunidades, impartiendo experiencias de aprendizaje vivificantes e inspiradoras; y generando una alta valoración mutua entre todos los grupos de interés.



Índice

Visión	2
Misión.....	2
Índice	3
Guía de práctica N° 01:	4
INSTRUMENTACION EN EL LABORATORIO DE HEMATOLOGÍA ESPECIAL	4
Guía de práctica N° 02:	8
RECONOCIMIENTO DE LA MORFOLOGIA MADURA DE LA SERIE BLANCA	8
Guía de práctica N° 03:	14
CITOMORFOLOGIA DE LAS CELULAS SANGUINEAS EN MEDULA Y SANGRE PERIFERICA	14
Guía de práctica N° 04:	17
MIELOGRAMA	17
Guía de práctica N° 05:	27
CITOMORFOLOGIA NORMAL Y PATOLOGICO DEL HEMATIE	27
Guía de práctica N° 06:	32
DIAGNOSTICO DE LAS ANEMIAS.....	32
Guía de práctica N° 07:	36
CITOQUÍMICA DE LAS CELULAS SANGUINEAS.....	36
Guía de práctica N° 08:	45
CITOMETRIA: ESTUDIO GRAFICO DEL CUADRO HEMATICO.....	45
Guía de práctica N° 09:	54
CITOMORFOLOGIA DE LAS NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS	54
Guía de práctica N° 10:	58
EL LABORATORIO EN EL DIAGNOSTICO DE LAS CITOPENIAS Y ANEMIAS REFRACTARIAS	58
Guía de práctica N° 11:	63
ESTUDIO CITOMORFOLOGICO CITOQUIMICA DE LAS LEUCEMIAS MIELOIDE AGUDA.....	63
Guía de práctica N° 12:	70
ESTUDIO CITOMORFOLOGICO CITOQUIMICA DE LAS LEUCEMIAS LINAJE LINFOIDE.....	70
Guía de práctica N° 13:	75
PRUEBAS DE FUNCION PLAQUETARIA	75
Guía de práctica N° 15:	84
PERFIL DE COAGULACION EN PATOLOGIAS DIVERSAS	84
Guía de práctica N° 16:	89
TALLER DE CONTROL DE CALIDAD EN HEMATOLOGIA.....	89



Guía de práctica N° 01:

INSTRUMENTACION EN EL LABORATORIO DE HEMATOLOGÍA ESPECIAL

Sección :	Apellidos :
Docente : Lic. Efraín Montes Hjar	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 180 minutos
	Tipo de práctica: Individual () Grupal (X)

Instrucciones: Observar las normas de bioseguridad.

1. Tema: Instrumentación en el Laboratorio de Inmunología Especial

2. Propósito/objetivo/logro/hipótesis:

Identificar las características de diseño, función y utilidad de cada instrumento, Equipo y materiales utilizados en el laboratorio de Hematología especial en el hospital Nacional Ramiro Priale Priale EsSalud Huancayo.

3. Equipos y materiales a utilizar:

A. Biológico

- Especímenes biológicos diversos utilizados en el laboratorio de hematología Especial.
- Animales de Experimentación.

B. De Laboratorio

- Equipos de Laboratorio de alta tecnología
- Instrumentos más utilizados en Laboratorio



- Materiales de Laboratorio de Hematología
- Insumos
- Reactivos
- Manuales de procedimientos técnico
- Poes

4. Notas de seguridad: Tener en cuenta las normas de bioseguridad, y contar con los contenedores resistentes a la punción.

5. Procedimiento experimental :

Presentación y exposición de cada uno de los equipos , instrumentos y materiales utilizados en un laboratorio de inmunología especial, detallar , arquitectura, diseño, describir sus partes, software y usos aplicaciones de los instrumentos para desarrollar la diferentes tecnologías.

Es muy importante que los materiales y equipos de uso común en el laboratorio se identifiquen por su nombre correcto y uso específico que tiene cada uno, pero más importante es saber manejarlo correctamente en el momento oportuno, teniendo en cuenta los cuidados y normas especiales para el uso de aquellos que así lo requieran. Los instrumentos y útiles de laboratorio están constituidos de materiales diversos y se clasifican de la siguiente manera: Material de laboratorio • Vidrio • Porcelana. • Plástico. • Metal. • Madera, goma y papel.

1. MATERIAL DE VIDRIO El instrumental de vidrio usado para realizar investigaciones o reacciones químicas debe ser fabricado con materiales resistentes a la acción de los agentes químicos. El vidrio corriente no sirve para la fabricación de instrumentos de laboratorio por ser muy frágil y vulnerable a los agentes químicos y físicos. Por tal razón se construyen de cristal de vidrio, pudiendo ser este de vidrio grueso o delgado. Los instrumentos construidos



con vidrio grueso solo son apropiados para contener y trasvasar (ver tabla N° 2) o medir (ver tabla N° 3) si se intenta calentarlos se puede romper con mucha facilidad. Ej: embudos, cilindros graduados, medidas cónicas y agitadores. Los instrumentos contruidos con vidrio delgado son muy resistentes al calor, pero solo cuando son calentados gradualmente y enfriados de la misma manera; por eso se recomienda interponer una rejilla metálica entre el fondo del recipiente y el mechero cuando va a realizarse un calentamiento del instrumento (entre estos están el Pyrex, vycor, kimble etc). Ej: Balones, matraces, vasos de precipitado, tubos de ensayo, etc. Los instrumentos volumétricos de vidrio delgado se caracterizan por su gran precisión a diferencia de los de vidrio grueso que es menos preciso. A continuación se describen alguno de los instrumentos de uso rutinario fabricados con vidrio. Existen otros materiales de vidrio de suma importancia dentro de un laboratorio como son: embudos, vidrio reloj, tubos conectores, tubos refrigerantes etc.

3. MATERIAL DE PLASTICO Así como los materiales se fabrican de vidrio y porcelana también se encuentran de plástico elaborados con polímeros resistentes a ácidos, solventes orgánicos e hidróxidos. En la tabla N° 6 se describen los diferentes materiales de plástico de uso frecuente en el laboratorio.

4.- Microscopio binocular eléctrico para docencia

5.- Analizador hemostasia. semi automático

6.- Analizador Automatizado de hemostasia.

7.- Analizador electroforesis.

8.- Analizador de quimioluminiscencia para VB12,FERRITINA ACIDO FOLICO.

9.- Microscopio Eléctrico Binocular.

10.- estufa o incubadora de calor seco. .

Metodología.

Cada estudiante se hace responsable de un equipo, instrumento o material asignado lo presenta describe sus características.



Luego el docente completa toda la información y detalles bondades de usos y aplicaciones de los mismos para lograr el propósito del conocimiento de la instrumentación.

6. Resultados

Los resultados es tomar nota de las características de cada material presentado, dibujar, fotografiar y/o revisar los manuales técnico operativos. Y manual del operador.

7. Conclusiones

8. Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- Kindt, T.J., Goldsby, R.A., Osborne, B.A.: 2007. Inmunología de Kuby. Ed. McGraw-Hill. México. Sexta edición. ISBN 13: 978-970-10-645
- ISO15189:2007. Laboratorios clínicos — Requisitos particulares para la calidad y la competencia. Organización Internacional de Normalización. 2007. Actualmente en revisión. 8. Guide for National Public Health Laboratory Networking to Strengthen Integrated Disease Surveillance and Response (IDSR). Organización Mundial de la Salud. 2008.
- <http://www.afro.who.int/en/clusters-a-programmes/hss/blood-safety-laboratories-a-health-technology/htmlpublications.html>, último acceso el 5 de octubre de 2012. 9. Asia Pacific Strategy for Strengthening Health Laboratorio Services (2010-2015). Organización Mundial de la Salud. 2010.
- Manual de Laboratorio INS, versión 2015, hematología



Guía de práctica N° 02:

RECONOCIMIENTO DE LA MORFOLOGIA MADURA DE LA SERIE BLANCA

Sección :
Docente : Lic. EFRAÍN MONTES HIJAR

Apellidos :
Nombres :
Fecha : .../.../..... Duración: 180 minutos
Tipo de práctica: Individual () Grupal (X)

1. Tema: Extendido Sanguíneo en lámina periférica y en medula ósea

2. Propósito/objetivo/logro/hipótesis:

Instrucciones: Observar las normas de bioseguridad.

Reconoce la obtención y el extendido sanguíneo

3. Equipos y materiales a utilizar:

- Materiales de toma de muestras:
 - Algodón
 - Ligadura
 - Agujas hipodérmicas vacutainer
 - Tubos de ensayo al vacío.

- Láminas porta objetos

- lamina portaobjetos biseladas

- puente de coloración

- Alcohol isopropílico

4. Notas de seguridad: Tener en cuenta las normas de bioseguridad, y contar con los contenedores resistentes a la punción.



9. Procedimiento experimental:

FROTIS SANGUINEO

El **frotis** provee esta información: El número y tipo de glóbulos blancos sanguíneos (diferencial, o porcentaje de cada tipo de célula) El número y tipo de células sanguíneas formadas anormalmente. El cálculo aproximado de los conteos de glóbulos blancos y de plaquetas.

MATERIALES

Portaobjetos (50 por alumno)

⊞ Tinciones para hematología, 1 set por alumno (solución May-Grunwall en solución alcohólica, tampón fosfato pH 7.2 con 3 mL de solución MayGrunwall, tampón fosfato pH 7.2 con 12.5 mL de Giemsa)

⊞ Cubetas para tinción, 1 set de tres cubetas por cada alumno (o recipientes plásticos de 15 x 15 x15 cm).

⊞ Carros de tinción (para poner portaobjetos en las cubetas de tinción), 1 por alumno

⊞ Pizetas con agua destilada

⊞ Toalla de papel

⊞ Guantes

⊞ Cubreobjetos 1 caja ⊞ Tubos con muestras de sangre con EDTA

PROCEDIMIENTO:

1. Con la lanceta estéril realizar una punción en un pulgar o utilizar una gota de sangre del tubo de hemograma. (lo ideal es una gota sin mezcla de anticoagulante)

2. Depositar una gota de sangre en la parte central de un portaobjetos muy limpio (libre de pelusas y grasa).

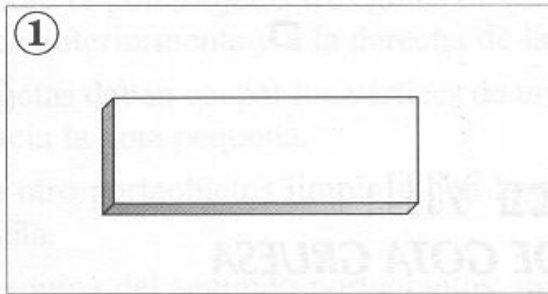
3. Con un cubreobjetos (tomarlo lateralmente entre las yemas de los dedos) deslizarlo sobre toda la superficie de la porta de manera que se pueda obtener una fina película de sangre. El inicio del frotis se denomina cabeza y la parte final del frotis se denomina cola. (observe la foto 3)

4. Esperar a que se seque la lámina, dejarla sobre una rejilla o toalla de papel, con la zona donde está la muestra mirando hacia arriba.

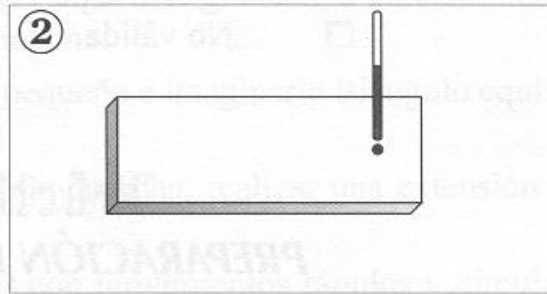


Procedimiento de Tinción

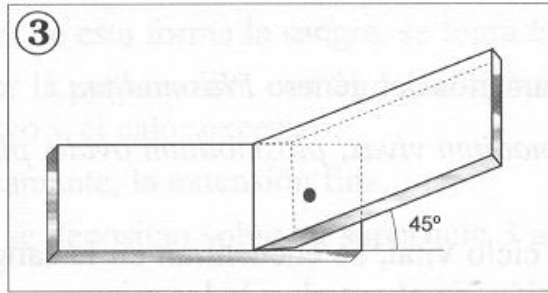
- : 1. Poner los frotis, con la preparación seca, en el carro de tinción.
2. Poner este carro en la 1° cubeta por 4 minutos.
3. Pasar el carro de tinción a la 2° cubeta, antes estilar el colorante de la primera cubeta. Dejar por 1 minuto.
4. Sacar el carro y ponerlo sobre papel absorbente.
5. Poner en la 3° cubeta por 12 minutos.
6. Sacar el carro de la tinción y lavar con agua corriente por 1 minuto.
7. Dejar sobre papel absorbente. Trasladar los frotis a una bandeja para su secado. Limpiar los frotis por el reverso, con papel suave.
8. La preparación está lista para la observación microscópica.



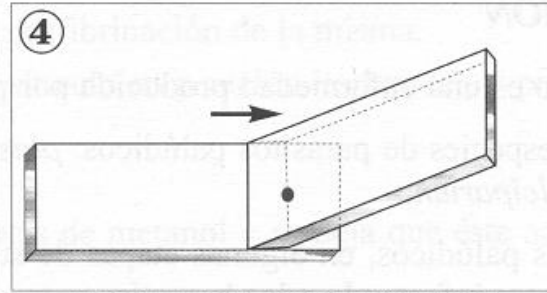
1 SUJETAR EL PORTA SOPORTE



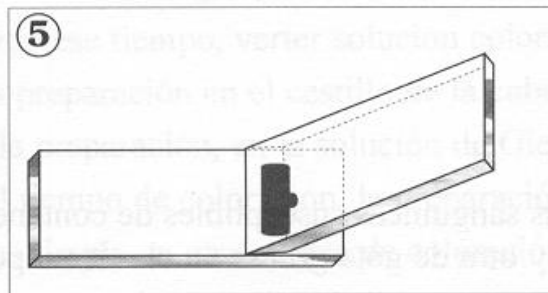
2 DEPOSITAR LA SANGRE



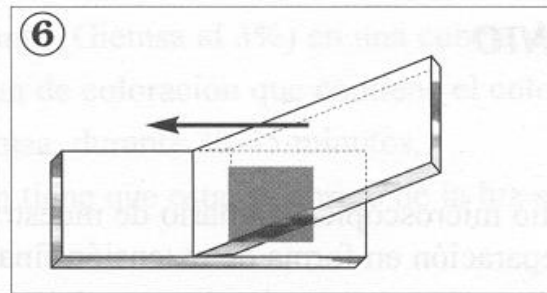
3 COLOCAR EL PORTA EXTENSOR



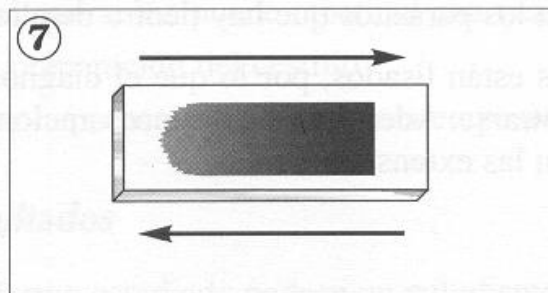
4 DESPLAZAR EL PORTA EXTENSOR



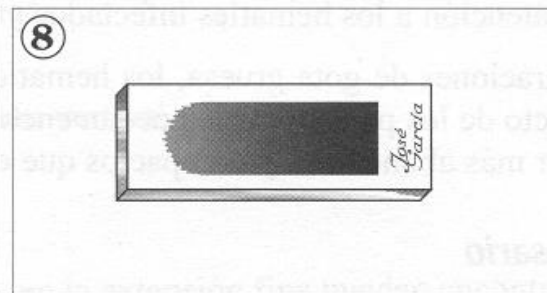
5 DEJAR QUE SE EXTIENDA LA SANGRE



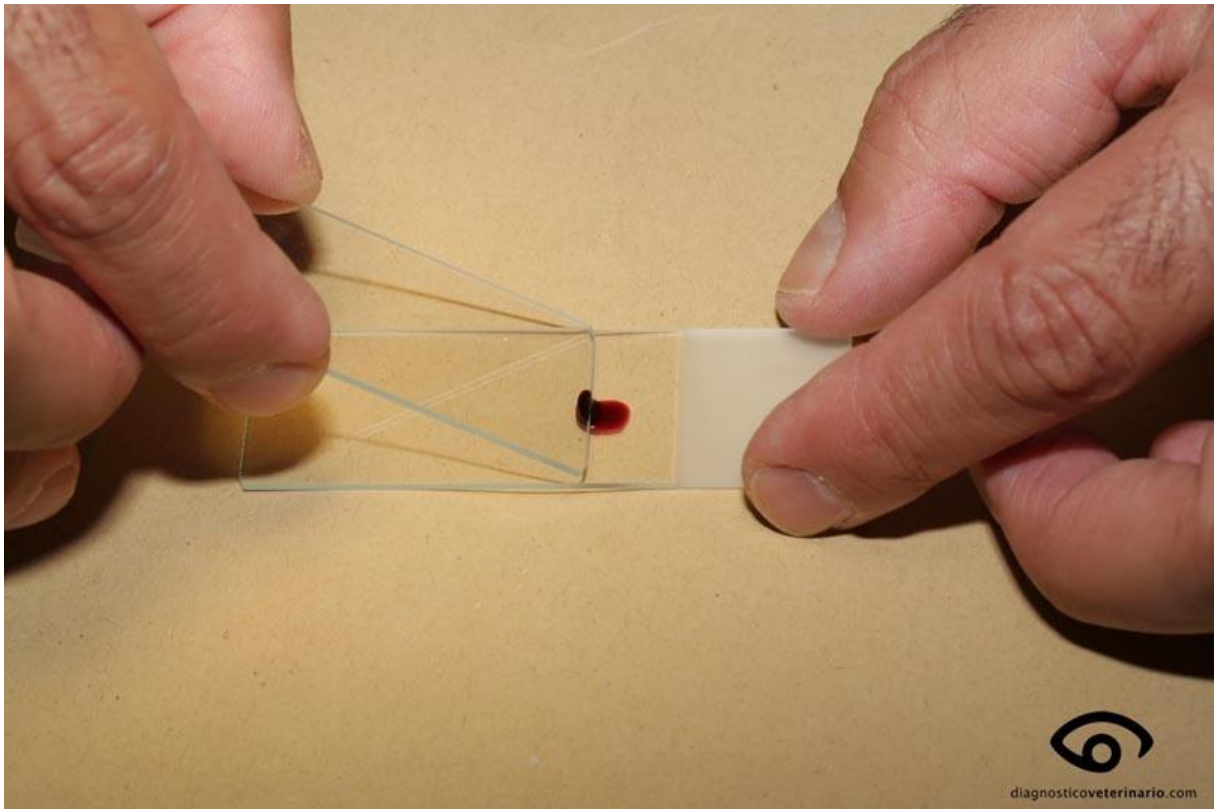
6 DESLIZAR EL PORTA EXTENSOR

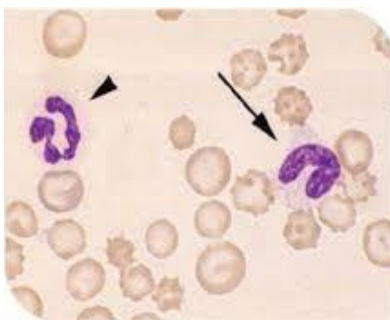
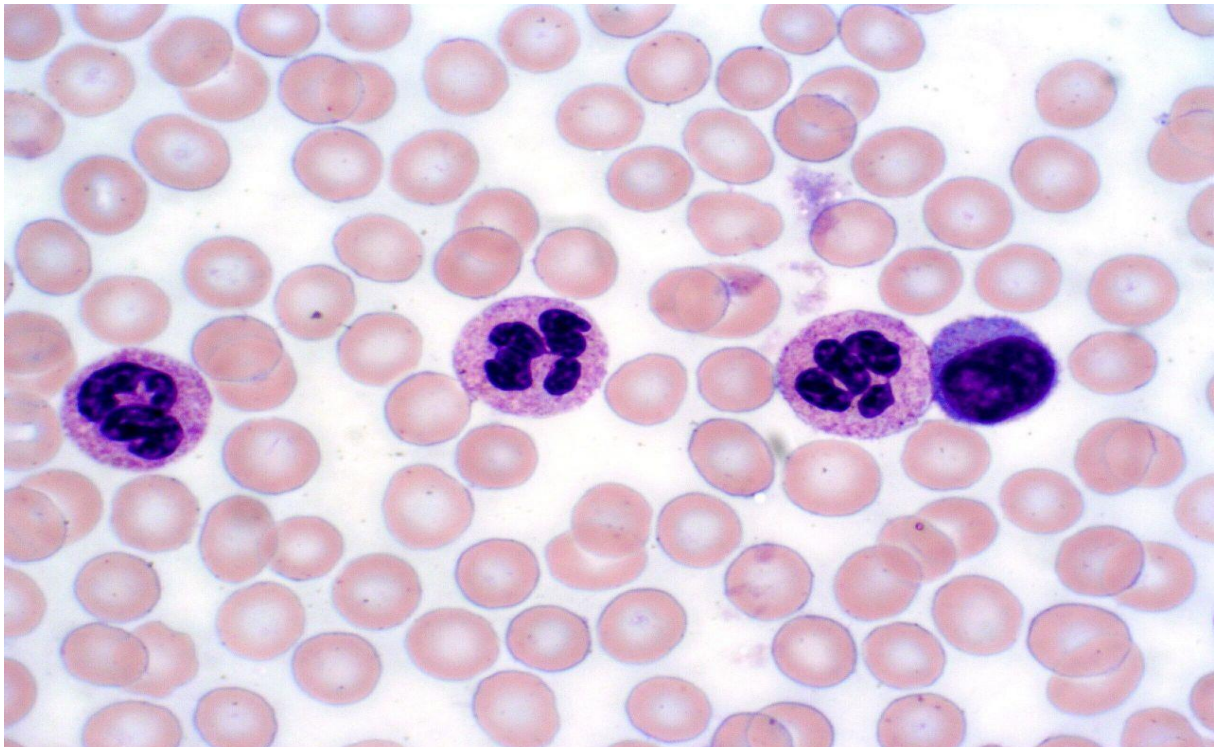


7 SECAR LA EXTENSIÓN

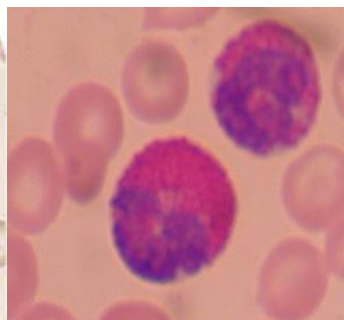


8 ROTULAR EL PORTA SOPORTE

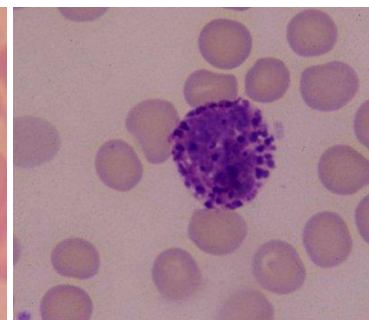




Izq. Neutrófilo segmentado



Eosinófilos



Basófilo

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

Ejemplo:

- INS (2015). Manual de Procedimientos de Laboratorio en Técnicas Básicas de Hematología. (9a. ed.). USA: John Wiley & Sons Inc.
- MANUAL DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO [en línea]. [Consulta: 20 de febrero de 2015]. Disponible en web:
http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/CDS_CSR_LYO_2004_11SP.pdf.
- <http://www.joseacortes.com/index.htm> (visita 10/02/2005)
<http://mavortis.uv.es/gueb/%20practicassangre/elige.html> (visita 10/02/2005)



Guía de práctica N° 03:

CITOMORFOLOGIA DE LAS CELULAS SANGUINEAS EN MEDULA Y SANGRE PERIFERICA

Sección :
Docente : Lic. MONTES HIJAR EFRAIN

Apellidos :
Nombres :
Fecha : .../.../..... Duración: 180 minutos
Tipo de práctica: Individual () Grupal (X)

1. Tema: Reconocimiento de la morfología madura de la serie blanca.

2. Propósito/objetivo/logro/hipótesis:

Instrucciones: Observar las normas de bioseguridad.
--

Reconoce la obtención y el extendido sanguíneo

3. Equipos y materiales a utilizar:

- Materiales de toma de muestras:

Algodón

Ligadura

Agujas hipodérmicas vacutainer

Tubos de ensayo al vacío.

- Láminas porta objetos

- lamina portaobjetos biseladas

- puente de coloración

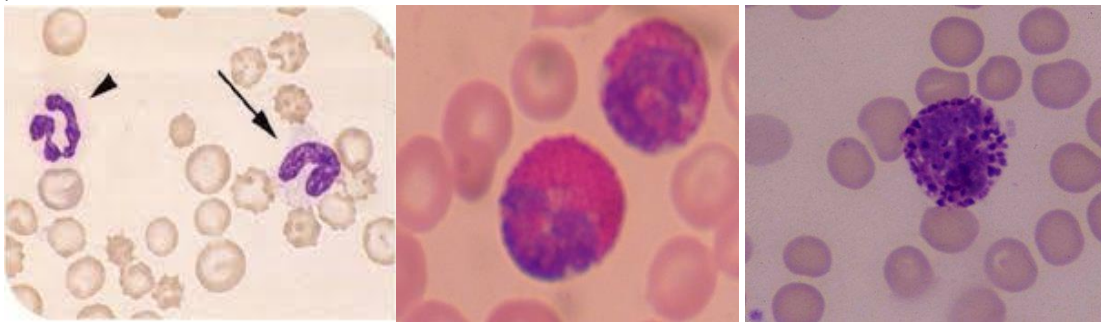
- Alcohol isopropílico

4. Notas de seguridad: Tener en cuenta las normas de bioseguridad, y contar con los contenedores resistentes a la punción.

10. Procedimiento experimental:

Los leucocitos se dividen en:

GRANULOCITOS: Aquellos que tienen gránulos específicos: neutrófilos, eosinófilos y basófilos. Los gránulos observados en extendido están cargados de lisosomas y enzimas hidrosolubles que son agentes antibacterianos necesarios para la digestión de partículas fagocitarias.



Izq. Neutrófilo segmentado

Eosinófilos

Basófilo

Der. Neutrófilo abastonado

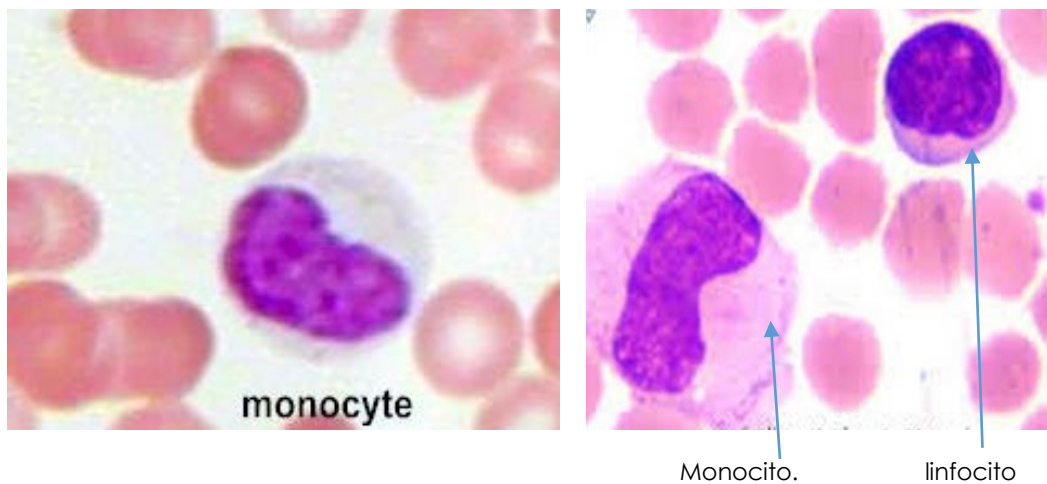
Abastonado: Mide de 9 μ m a 15 μ m, núcleo condensado que puede presentar una ó dos constricciones, pero no tiene puente de cromatina, . El citoplasma presenta gránulos secundarios específicos, membrana celular lisa, citoplasma de color ligeramente rosado dependiendo de la coloración.

Neutrófilos segmentados Mide igualmente de 9 μ m a 15 μ m, núcleo que presenta mayor condensación y está formado por varios lóbulos (hasta 5) unidos por puentes de cromatina. El citoplasma está cargado de gránulos.

Eosinófilos; Son parecidos a los neutrófilos, pero son algo mayores. Generalmente el núcleo es bilobulado y lo que más caracteriza a esta célula es la presencia de gránulos color naranja-marrón.

Basófilos La característica más importante de esta célula es la cantidad de gránulos de color azul negrozco que se encuentra ocupando toda la célula (esto cuando la célula es madura) y parte de la célula cuando ésta es inmadura. Presenta un núcleo que muchas veces no logra observarse por la cantidad de gránulos que contienen histamina y heparina.

AGRANULOCITOS:



Dentro de los agranulocitos tenemos a los linfocitos y monocitos.

Linfocitos: Los linfocitos pueden ser grandes, medianos y pequeños.

Linfocito pequeño: varía a 7 a 12 μm , la relación N:C es de 4:1, el núcleo es oval y excéntrico con una cromatina áspera y densa, compacta. El citoplasma es un solo borde delgado, con algunos gránulos rojos azurófilos.

Linfocito grande: tamaño de 15 a 18 μm , relación N:C 2:1, la cromatina es más laxa. El citoplasma es más claro y grande y con gránulos azurófilos.

Linfocito mediano: tamaño de 12 a 15 μm , relación N:C 3:1, núcleo de central a ligeramente excéntrico, cromatina compacta y homogénea.

Monocitos: Tamaño de 12 a 20 μm , relación N:C 1:1, el núcleo toma diferentes formas desde circunvoluciones coleriformes hasta una forma lobulada en forma de S, cromatina laxa y suave, distribuida en forma regular. El citoplasma es de color gris, abundante y puede presentar gránulos inespecíficos (azurófilos) muy finos,

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

Ejemplo:

- INS (2015). **Manual de Procedimientos de Laboratorio en Técnicas Básicas de Hematología**. (9a. ed.).USA: John Wiley & Sons Inc.
- MANUAL DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO [en línea]. [Consulta: 20 de febrero de 2015]. Disponible en web:
http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/CDS_CSR_LYO_2004_11SP.pdf



Guía de práctica N° 04:

MIELOGRAMA

Sección :	Apellidos :
Docente : Lic. Efraín Montes Hajar	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 180 minutos
	Tipo de práctica: Individual () Grupal (X)

Instrucciones: Observar las normas de bioseguridad.

1. Tema: Mielograma

2. Propósito/objetivo/logro/hipótesis:

Reconocer la unidad anatómica de la medula ósea, elementos que constituyen la medula ósea y evaluación numérica de la composición citológica.

3. Equipos y materiales a utilizar:

- Microscopio
- Láminas coloreadas con Wright
- Aceite de inmersión
- Papel lente
- Alcohol isopropílico

4. **Notas de seguridad:** Tener en cuenta las normas de bioseguridad, y contar con los contenedores resistentes a la punción.

5. Procedimiento experimental :



Se estudiará el recuento normal y alterado de la medula ósea, así como la diferenciación de las distintas estirpes celulares.

MIELOGRAMA

El Mielograma es el estudio de la medula ósea mediante una punción, a través de la cual se obtiene una pequeña muestra de medula ósea (0.1-0.3 ml), a nivel macroscópico la morfología y apariencia de esta muestra puede orientarnos hacia un diagnóstico por ejemplo:

- Rojo: hiperplasia eritroblástica
- Oleoso: aplasia medular
- Negrozco: melanoma metastásica
- Blanco: hiperplasia medular

Además debemos entender que este es un procedimiento invasivo, por tal motivo debe tener en cuenta ciertos criterios como: anomalías de varias líneas celulares en sangre periférica, presencia de blastos circulantes excepto en lactantes y RN que presentan una infección, en pacientes pancitopenicos excepto en quienes reciben tratamiento supresor, estadificar el linfoma de Hodgkin, el linfoma no Hodgkin y el carcinoma, y en casos de citopenias.

¿QUÉ DEBEMOS EVALUAR EN UNA MUESTRA DE MEDULA OSEA?

- Apariencia de la sangre aspirada
- CC de hierro
- Numero de sideroblastos
- Relación mieloide-eritroide
- Maduración de la serie mieloide,eritroide
- Porcentaje de Eosinófilos, basófilos y células cebadas
- Numero de megacariocitos
- Presencia de otras células como linfocitos, células plasmáticas, histiocitos



- Anormalidades del estroma: granulomas, fibrosis, necrosis, etc.
- Contenido de hemosiderina
- Anormalidades de los vasos sanguíneos
- Anormalidades óseas

Se puede obtener la muestra por aspiración a través de una aguja, o biopsia por trepanación percutánea, en caso de adultos se puede tomar de la cresta iliaca, esternón, espina iliaca anterior o posterior, huesos largos, en caso de niños y neonatos se opta por la tibia.

MATERIALES PARA UNA PUNCION MEDULAR

- Agujas de punción medular 7-8 cm con fiador de ajuste y dispositivo de seguridad. (agujas de rosenthal, agujas de jamshidi)
- Guantes quirúrgicos
- Jeringa de 10-20 ml
- Yodo povidona
- Lidocaína al 2 %
- Líquido de transporte de biopsia (formol al 10%)

PROCEDIMIENTO

- FIRMAR el consentimiento de procedimiento
- Colocar al paciente en decúbito lateral derecho o izquierdo
- Limpiar la zona de la punción con yodo povidona
- Infiltrar: piel, tejido subcutáneo, músculo y periostio con lidocaína al 2 % de 2 a 5 ml
- Introducir la aguja 3-5 mm en el hueso
- Retirar fijado
- Conectar una jeringa y aspirar el contenido medular
- Realizar extensiones sin demora(máximo 30 “)

EXTENSIONES DE MEDULA



- a. COMO UN FROTIS, las partículas grises de la M.O se ven a simple vista sirven de indicadores para el examen microscópico
- b. PREPARACIONES APLASTADAS: colocar una gota en un portaobjetos cerca de un extremo, color sobre el otro portaobjeto, ejercer una ligera presión para aplastar partículas, separar los portaobjetos deslizando uno sobre otro en direcciones opuestas.

BIOPSIA POR TREPANACION:

- Utilizando un movimiento de rotación hacia adelante y hacia atrás para extraer un trozo de tejido, muestra típica de 1,9 cm por 0.15, con unos 150 mg de peso.
- Es en forma de cilindro útil para evaluar enfermedades que producen lesiones focales (linfomas, mieloma múltiple, tumores metastásica, amiloidea y granulomas)

COLORACIONES

- PARA BIOPSIA POR TREPANACION
El tratamiento a la muestra se destina a Anatomía Patológica, donde reciben coloraciones de H-E, etc.
- PARA ASPIRADOS POR PUNCION
En el caso de aspirados por punción se utiliza coloración tipo romanowsky, es decir TINCIÓN WRIGHT el mismo que está compuesto por azul de metileno (que tiñe los componentes celulares ácidos), y la eosina (componentes celulares básicos)
También se puede usar la coloración MIELO PEROXIDASA la cual es una enzima que se encuentra en los gránulos primarios, cuando se encuentra peróxido de hidrogeno la MPO oxida los sustratos de tinción que crea una coloración negra a marrón rojiza.



Así mismo se utiliza SUDAN NEGRO B para diferenciar la LMA de la LLA, esta tiñe los lípidos que se encuentran en los gránulos primarios y secundarios de los neutrófilos.

Para diferenciar la LMC de una reacción leucemoide en infecciones graves esta la FAL (FOSFATASA ALCALINA) que es una enzima de gránulos secundarios de los neutrófilos, el sustrato es el naftol fosfato y es hidrolizado por la enzima de presencia del pH alcalino.

LA COLORACIÓN PAS, ACIDO PERYODICO DE SHIFF. El ácido peryódico oxida al glucógeno, mucoproteinas y otros carbohidratos, estos reaccionan con el reactivo de shiff formando precipitados rojo brillante.

Y por último LA REACCIÓN DE AZUL DE PRUSIA O DE PERLS, el hierro de depósito se encuentra en el interior de las células en forma de agregados de hemosiderina en los eritroblastos algunos eritrocitos, macrófagos de MO. El ácido clorhídrico para liberar iones férricos que reaccionan con el ferrocianuro dando un precipitado azul verdoso de ferrocianuro férrico lo normal es de 30-60 % de sideroblastos con 1 a 4 gránulos en la superficie.

RECUESTO DIFERENCIAL DE LA MEDULA

Grupo	Serie celular	Tipo de células	(%) aproximado	
I	Granulocítica, neutrófila, eosinófila y basófila	Promielocitos Mielocitos Metamielocitos Cayados Polimorfonucleares	60	Relación gránulo/eritroide: 3/1
II	Eritroblástica	Proeritroblastos Eritroblastos	20	
III	Linfoide, monocítica y megacariocítica	Linfocitos y células plasmáticas Monocitos y macrófagos Megacariocitos	20	



	Límites de normalidad (%)
<i>Serie neutrófila total</i>	49,2-65,0
Mieloblastos	0,2-1,5
Promielocitos	2,1-4,1
Mielocitos	8,2-15,7
Metamielocitos	9,6-24,6
Bandas	9,5-15,3
Segmentados	6,0-12
<i>Serie eosinófila total</i>	1,2-5,3
Mielocitos	0,2-1,3
Metamielocitos	0,4-2,2
Bandas	0,2-2,4
Segmentados	0-1,3
<i>Basófilos y mastocitos</i>	0-0,2
<i>Serie eritroblástica total</i>	18,4-33,8
Proeritroblastos	0,2-1,3
Eritroblastos basófilos	0,2-1,3
Eritroblastos policromatófilos	17,9-29,9
Eritroblastos ortocromáticos	0,4-4,6
<i>Linfocitos</i>	11,1-23,1
<i>Células plasmáticas</i>	0,4-3,9
<i>Monocitos</i>	0-0,8
<i>Megacariocitos</i>	0-0,4
<i>Histiocitos y células reticulares</i>	0-0,9

A. SERIE GRANULOCITICA, NEUTROFILICA, EOSINOFILA, BASOFILA:

- a. MIELOBLASTO: tamaño entre 15-20 micras, relación N/C es baja, membrana nuclear generalmente regular, con presencia de nucléolos prominentes, cromatina, fina, laxa u homogénea, citoplasma ligera a intensamente basófilo y sin gránulos generalmente.
- b. PROMEILOCITO: tamaño entre 16-25 micras, relación N/C es baja, membrana nuclear más o menos regular, en ocasiones de núcleo excéntrico, con presencia de nucléolos prominentes,

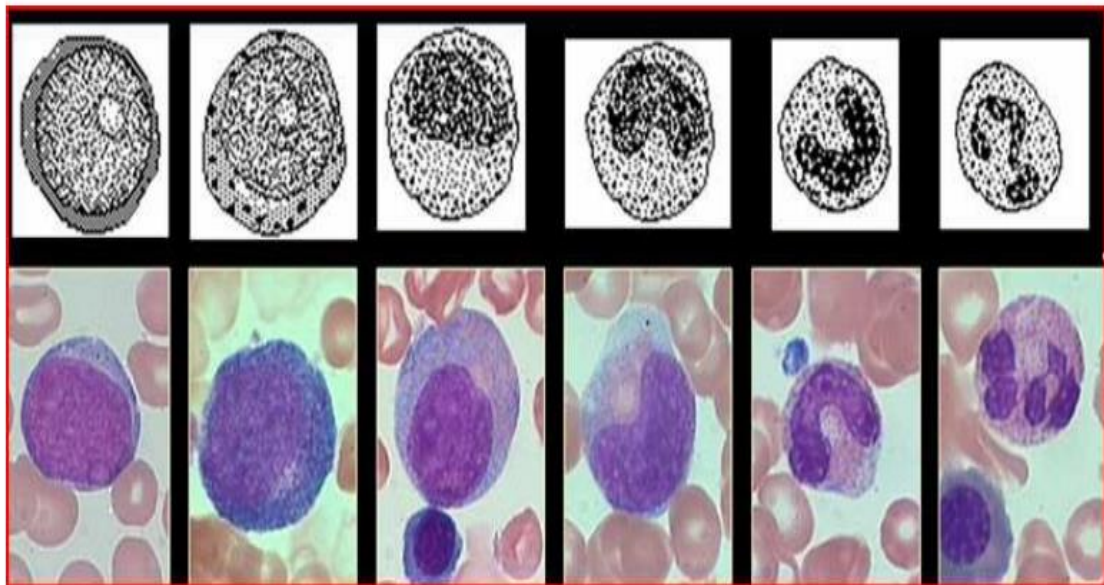


cromatina, menos laxa que el blasto, citoplasma intensamente basófilo y abundantes gránulos.

- c. MIELOCITO: tamaño entre 12-18 micras, relación N/C es baja, membrana nuclear más o menos regular, en ocasiones de núcleo excéntrico (ocupa el 50% del citoplasma de la célula), ocasionalmente presenta nucléolos, cromatina, más gruesa y condensada que el promielocito, citoplasma ligeramente basófilo a pálido rosado, con una zona clara adyacente al núcleo y gránulos primarios y secundarios pocos a moderado.
- d. METAMIELOCITO: tamaño entre 10-15 micras, relación N/C es baja, membrana nuclear indentado u hendido, núcleo lateralizado, no presenta nucléolos, cromatina intermedia es decir laxa o densa, gruesa aglutinada, citoplasma pálido rosado, zona clara adyacente al núcleo es más pronunciada y gránulos primarios azurofilos pocos y muchos secundarios.
- e. BANDAS: tamaño entre 10-14 micras, relación N/C es muy baja, membrana nuclear en forma de bastón, no presenta nucléolos, cromatina densa, compacta madura, citoplasma pálido rosado, presencia de gránulos primarios y secundarios en mayor cantidad. Sangre periférica 0-5%.

- f. CELULAS MADURAS: SEGMENTADO; tamaño entre 10-14 micras, relación N/C es baja, membrana nuclear en forma lobular o pequeños segmentos, no presenta nucléolos, cromatina densa compacta madura, citoplasma naranja o pálido rosado, presencia de gránulos primarios y secundarios en mayor cantidad: M.O 13 a 31. EOSINOFILO: tamaño entre 14-16 micras, relación N/C es baja, no presenta nucléolos, cromatina densa compacta madura, citoplasma con granulaciones de elevada afinidad por la eosina, los gránulos se superponen al núcleo que es excéntrico, bilobulado en forma de anteojos. BASOFILO; son más pequeños que los neutrófilos y eosinófilos se caracterizan por sus granulaciones densamente teñidas de violeta oscuro que enmascaran el núcleo que es bilobulado o indentado.

MIELOBLASTO, PROMIELOCITO, MIELOCITO, METAMIELOCITO, BANDA, SEGMENTADO



B. SERIE ERITROBLASTICA:

- a. PROERITOBLASTO: Tamaño 12-20 micras, núcleo redondo muy regular, presencia de 1-2 nucléolos prominentes, cromatina fina, laxa, citoplasma intensamente basófilo, relación N/C baja 8/1.



- b. ERITROBLASTO BASOFILO: Tamaño 10-15 micras, membrana nuclear regular, núcleo redondo muy regular, presencia de 0-1 nucléolo (esbozo), cromatina ligeramente basófilo, citoplasma ligeramente basófilo, relación N/C baja 6/1.
- c. ERITROBLASTO POLICROMATOFILO: Tamaño 10-12 micras, membrana nuclear regular, no presenta nucléolos, cromatina condensada, citoplasma azul grisáceo, relación N/C baja 4/1.
- d. ERITROBLASTO ORTOCROMATICO: Tamaño 8-10 micras, membrana nuclear regular, no presenta nucléolos, cromatina totalmente condensada, citoplasma azul salmón, relación N/C baja 0.5/1.

C. SERIE LINFOCITICA, MONOCITICA, MEGACARIOCITICA:

- a. MEGACARIOBLASTO: Tamaño 6-24 micras, membrana nuclear irregular, presenta numerosos nucléolos, cromatina fina-laxa, citoplasma intensamente basófilo, membrana citoplasmática irregular (blebs) relación N/C aumentada.
- b. PROMEGACARIOCITO: Tamaño 30-50 micras, núcleo irregular, no presenta nucléolos, cromatina fina, citoplasma azul basófilo, relación N/C aumentada.
- c. MEGACARIOCITO GRANULAR: tiene un núcleo multilobulado, citoplasma de tonalidad rosada y es de gran tamaño 16-56 micras, presenta membrana de marcación distribuida de forma asimétrica, y un gran número de gránulos.
- d. MEGACARIOCITO MADURO: posee un extenso citoplasma que ha perdido todo el resto de basofilia y está cubierta totalmente por granulaciones azurofilas, el núcleo lobulado de cromatina condensada no posee nucléolo.



6. Observaciones:

7. Conclusiones:



Guía de práctica N° 05:

CITOMORFOLOGIA NORMAL Y PATOLOGICO DEL HEMATIE

Sección :	Apellidos :
Docente : Lic. Efraín Montes Hajar	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 180 minutos
	Tipo de práctica: Individual () Grupal (X)

Instrucciones: Observar las normas de bioseguridad.

1. Tema: Citomorfología Normal y Patológico del Hematíe

2. Propósito/objetivo/logro/hipótesis:

Reconocer las características citomorfológicas del Hematíe normal y patológico en las diferentes enfermedades.

3. Equipos y materiales a utilizar:

- Microscopio
- Láminas coloreadas con Wright
- Aceite de inmersión
- Papel lente
- Alcohol isopropílico

4. Notas de seguridad: Tener en cuenta las normas de bioseguridad, y contar con los contenedores resistentes a la punción.



5. Procedimiento experimental :

Se estudiará las características morfológicas en color forma tamaño y todas las variantes en alteraciones del hematíe que relaciona con las diferentes patologías asociadas a la serie roja.

HEMATIE

Los **hematíes** son las células sanguíneas que contienen en su interior la hemoglobina. Los glóbulos rojos son los principales portadores de oxígeno a las células y tejidos del cuerpo. Tienen una forma bicóncava para adaptarse a una mayor superficie de intercambio de oxígeno por dióxido de carbono en los tejidos. Además su membrana es flexible lo que permite a los glóbulos rojos atravesar los más estrechos capilares.

PRODUCCION

Los glóbulos rojos se producen en la médula ósea, a partir de células madre que se multiplican a gran velocidad.

La producción de glóbulos rojos está regulada por la *eritropoyetina*, que es una hormona producida por el riñón. Una disminución de la oxigenación de los tejidos aumenta la producción de eritropoyetina, que actúa en la médula ósea estimulando la producción de glóbulos rojos.

¿QUÉ DEBEMOS EVALUAR EN UNA MUESTRA DE MEDULA OSEA Y/O SANGRE PERIFERICA?

- Características de forma normal del hematíe
- Características de color normal del hematíe
- Relación de intensidad de coloración del hematíe
- Maduración en relación sangre medular de periférica
- Alteraciones por su forma Acantocito
- Alteraciones por su forma Equinocito
- Alteraciones por su forma Dianocito
- Alteraciones por su forma Dacriocito
- Alteraciones por su forma Queratocito
- Alteraciones por su forma Esferocito



- Alteraciones por su forma Drepanocito
- Alteraciones por su forma ovalicito
- Alteraciones por su forma Eliptocito
- Alteraciones por su color : hipocromía leve
- Alteraciones por su color : hipocromía moderada
- Alteraciones por su color: hipocromía severa.
- Alteraciones por su inclusión eritrocitaria
- Inclusiones con Plasmodium vivax
- Inclusiones de corpúsculos de Jowel holly

MATERIALES

- Láminas en fresco y coloreadas con colorante Wright
- Microscopio eléctrico binocular
- Aceite de inmersión
- Colorante Wright
- Colores
- Atlas de células sanguíneas
- libreta

PROCEDIMIENTO:

EXTENSIONES DE MEDULA y/o SANGRE PERIFERICA

- c. FROTIS MEDULAR la coloración e realiza aplicando un m mayor tiempo en la tinción
- d. FROTIS DE SANGRE PERIFERICA: se colorea a partir de un frotis de un paciente con anemia respetando los tiempos par sangre periférica

- Enfocar las láminas al microscopio Binocular
- observar las estructuras normales del Hematíe



- realizar descripción y esquematizar mediante coloreando los hallazgos morfológicos de las mismas
- Enfocar a las láminas clasificadas por alteraciones de forma y color
- interpretar los hallazgos

Valores normales de eritrocitos en la sangre

Recién nacido	4 a 5 millones/ml
A los 3 meses	3,2 a 4,8 millones/ml
Al año de edad	3,6 a 5 millones/ml
Entre los 3 y 5 años	4 a 5,3 millones/ml
De los 5 a los 15 años	4,2 a 5,2 millones/ml
Hombre adulto	4,5 a 5 millones/ml
Mujer adulta	4,2 a 5,2 millones/ml

D. SERIE ERITROBLASTICA:

- PROERITOBLASTO: Tamaño 12-20 micras, núcleo redondo muy regular, presencia de 1-2 nucléolos prominentes, cromatina fina, laxa, citoplasma intensamente basófilo, relación N/C baja 8/1.
- ERITROBLASTO BASOFILO: Tamaño 10-15 micras, membrana nuclear regular, núcleo redondo muy regular, presencia de 0-1 nucléolo (esbozo), cromatina ligeramente basófilo, citoplasma ligeramente basófilo, relación N/C baja 6/1.
- ERITROBLASTO POLICROMATOFILO: Tamaño 10-12 micras, membrana nuclear regular, no presenta nucléolos, cromatina condensada, citoplasma azul grisáceo, relación N/C baja 4/1.
- ERITROBLASTO ORTOCROMATICO: Tamaño 8-10 micras, membrana nuclear regular, no presenta nucléolos, cromatina totalmente condensada, citoplasma azul salmón, relación N/C baja 0.5/1.



6. Observaciones:

7. Conclusiones:



Guía de práctica N° 06:

DIAGNOSTICO DE LAS ANEMIAS

Sección :	Apellidos :
Docente : Lic. Efraín Montes Hajar	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 180 minutos
	Tipo de práctica: Individual () Grupal (X)

Instrucciones: Observar las normas de bioseguridad.

1. Tema: El Laboratorio en el Diagnostico de Las anemias (hematimetría, constantes corpusculares, y morfología de la serie roja)

2. Propósito/objetivo/logro/hipótesis:

Identificar las características de diagnóstico diferencial de las anemias interpreta correctamente los resultados de hematimetría, índices eritrocitarios y morfología de las alteraciones de la serie roja.

3. Equipos y materiales a utilizar:

- Analizador Hematológico Sysmex 4000 xi
- Microscopio
- muestras patológicas
- colorante Wright
- Aceite de inmersión
- Papel lente
- Alcohol isopropílico
- láminas patológicas



- corridas de pacientes con anemias diversas

4. Notas de seguridad: Tener en cuenta las normas de bioseguridad, y contar con los contenedores resistentes a la punción.

5. Procedimiento experimental :

Se estudiará las características morfológicas en color forma tamaño y todas las variantes en alteraciones del hematíe que relaciona con las diferentes patologías asociadas a la serie roja., se interpretara los índices eritrocitarios de los diferentes casos de anemias, asociando a los diagnostico diferencial de las anemias.

ANEMIA

La **anemia** es una enfermedad en la que la sangre tiene menos glóbulos rojos de lo normal. También se presenta **anemia** cuando los glóbulos rojos no contienen suficiente hemoglobina. La hemoglobina es una proteína rica en hierro que le da a la sangre el color

PRODUCCION

TIPOS DE ANEMIAS MÁS FRECUENTES

- Anemias Ferroprivas
- Anemias de enfermedades crónicas
- Anemia de Enfermedad renal crónica
- Anemias Megaloblásticas
- Anemias Sideroblasticas
- Anemia Aplásicas
- Anemias por defecto de las proteínas de membrana
- Anemia hemolítica Autoinmune
- Anemia Hemolítica Alo inmune (hemolítica del recién nacido)

MATERIALES



- Láminas en fresco y coloreadas con colorante Wright
- Microscopio eléctrico binocular
- Aceite de inmersión
- Colorante Wright
- Colores
- Atlas de células sanguíneas
- libreta

PROCEDIMIENTO:

EXTENSIONES DE MEDULA y/o SANGRE PERIFERICA

- e. FROTIS MEDULAR la coloración se realiza aplicando un mayor tiempo en la tinción
- f. FROTIS DE SANGRE PERIFERICA: se colorea a partir de un frotis de un paciente con anemia respetando los tiempos par sangre periférica
- Enfocar las láminas al microscopio Binocular
- observar las estructuras anormales del Hematíe y sus variantes
- realizar descripción y esquematizar los hallazgos morfológicos de las anemias.
- Enfocar a las láminas clasificadas por alteraciones de forma y color
- interpretar los hallazgos en los pacientes según casos clínicos presentados



6. Observaciones:

7. Conclusiones:



Guía de práctica N° 07:

CITOQUÍMICA DE LAS CELULAS SANGUINEAS

Sección :	Apellidos :
Docente : Lic. Efraín Montes Hajar	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 180 minutos
	Tipo de práctica: Individual () Grupal (X)

Instrucciones: Observar las normas de bioseguridad

1. Tema: Citoquímica de las células sanguíneas.

2. Propósito/objetivo/logro/hipótesis:

Reconocer las características citoquímicas de las células sanguíneas

3. Equipos y materiales a utilizar:

- Microscopio
- Láminas coloreadas con Wright
- Aceite de inmersión
- Papel lente
- Alcohol isopropílico
- colorantes más utilizados
-

4. Notas de seguridad:

Tener en cuenta las normas de bioseguridad, y contar con los contenedores resistentes a la punción.



5. Procedimiento experimental :

Se estudiará las características citoquímicas de las células sanguíneas en respuesta a la reacción del colorante con las estructuras más importantes de las células sanguíneas.

CITOQUIMICA

La citoquímica estudia la composición química de la célula y permite detectar la localización topográfica de algunos principios inmediatos, enzimas, metales pesados y otras sustancias. Se considera como un nexo de unión entre la morfología y la bioquímica.

Las técnicas citoquímicas son un complemento de las tinciones hematológicas, y por medio de ellas se localizan enzimas y sustancias inorgánicas., mejorando así la diferenciación celular y en algunos casos también sirven para el diagnóstico de ciertas leucemias.

Los componentes celulares que son posibles revelar con el estudio citoquímico son:

- Enzimas (oxidantes e hidrolíticas)
- Glucógeno
- Lípidos

Entre las enzimas oxidantes se encuentra la peroxidasa leucocitaria. Entre las enzimas hidrolíticas (hidrolasas) se encuentran entre otras las fosfatasa ácidas, fosfatasa alcalinas, esterasas específicas y no específicas.

MATERIALES

- Colorantes más utilizados en citoquímica
- Microscopio eléctrico binocular
- Aceite de inmersión
- fijadores
- Colores



- Atlas de células sanguíneas
- libreta

PROCEDIMIENTO:

Las tinciones citoquímicas se realizan en frotis de médula ósea o sangre periférica.

1. Fijación de la extensión: Evita el deterioro celular al preservar las estructuras y reactividad funcional celulares evitando fenómenos nocivos para las mismas e impidiendo también la difusión de componentes bioquímicos entre los diferentes compartimentos celulares así como al medio extracelular.

Se puede realizar con un gran número de sustancias fijadoras como: metanol, etanol, acetona, que actúan coagulando las proteínas celulares así como el formaldehído y glutaraldehído, que actúan formando puentes intra e interproteicos, de manera que se altera menos la estructura celular. Es importante eliminar bien todos los restos de fijador para evitar interacciones con el compuesto que se desea analizar.

2. Incubación en el medio de reacción: Al poner en contacto las células con el medio de reacción se liberan unos productos que, bien por sí mismos o bien combinados con otros, dan lugar a un precipitado apreciable al microscopio óptico. En el caso de identificación de enzimas se debe controlar bien el pH y la temperatura para optimizar la reacción.

3. Tinción de contraste: Se realiza para facilitar la identificación morfológica de la célula en la que se ha producido la reacción ya que permite resaltar en lo posible el producto de reacción y permite una óptima visualización del núcleo y del citoplasma.



Las reacciones deben tener 3 características: sensibilidad, especificidad y reproductibilidad.

En las leucemias agudas la citoquímica se realiza sobre muestras extendidas de médula ósea, pues en ellas existe mayor representación de la población tumoral, pero puede utilizarse la periferia si el recuento de blastos es elevado.

Las tinciones citoquímicas más comunes son:

- Tinción de Mieloperoxidasa
- Tinción de Fosfatasa Alcalina Granulocitaria (FAL o FAG)
- Tinción de Fosfatasa Acida (FAC)
- Negro Sudán B (lípidos)
- Esterasas
- Tinción del ácido periódico de Schiff (PAS) (glucógeno)

TINCIONES INMUNOHISTOQUÍMICA FRECUENTEMENTE UTILIZADAS EN LEUCEMIAS	
Nombre de la tinción	Tipo de Leucemia
Mieloperoxidasa (MPO)	Células Mielomonocíticas
Sudán Negro B (SBB)	Células Mielomonocíticas
Esterasa de cloroacetato (SE)	Células Granulocíticas y sus blastos
Esterasa alpha naftilbutirato (NSE)	Células Monocíticas
PAS en bloques	Linfoblastos, eritroblastos
PAS en parches	Células Mieloides
TdT	La mayoría de los linfoblastos, algunos mieloblastos
Fosfatasa ácida resistente a tartrato	Leucemia de Células Vellosas
Fosfatasa alcalina leucocitaria	Baja en leucemia mieloide crónica
Azul de prusia	Anemia refractaria con sideroblastos en anillo

Creado por: Mauricio Lema Medina - LemaM@ucont.pe - 2024



PAS

La reacción de PAS o del ácido periódico de Schiff se basa en la rotura de los enlaces -C-C- presentes en los carbohidratos por la acción del ácido peryódico, potente agente oxidante, liberándose grupos aldehído que al combinarse con el reactivo de Schiff dan un compuesto de color rojo púrpura intenso. Identifica al glucógeno en el citoplasma celular.

La reacción del PAS ha perdido utilidad en el diagnóstico hematológico después de la aparición de mejores marcadores. Sigue teniendo interés en la diferenciación de diferentes tipos de leucemias linfoblásticas, en la eritroleucemia y en diversas mielodisplasias.

NEGRO B DE SUDÁN

Es una coloración no enzimática útil en patología mieloide. Tiñe los fosfolípidos y otros lípidos, colorea los gránulos azurófilos y específicos de los granulocitos y tiene la ventaja de que con el tiempo no disminuye la actividad. Los neutrófilos segmentados y sus precursores muestran unos gránulos gruesos en el citoplasma de color gris muy oscuro.

PEROXIDASA

La demostración citoquímica de esta enzima se basa en la acción oxidante de la peroxidasa sobre el substrato, bencidina, en presencia de peróxido de hidrógeno, apareciendo un precipitado amarillo ocre en el lugar del citoplasma en donde se ha producido la reacción.

La mieloperoxidasa se sintetiza en el retículo endoplasmático rugoso, de donde pasa a las cisternas del aparato de Golgi quedando localizada fundamentalmente en la granulación 1ª o azurófila. Se localiza sobre todo, en los gránulos primarios de los neutrófilos y precursores, así como en los gránulos de los eosinófilos y monocitos.



Dicha enzima se combina in vivo con peróxido de hidrógeno transformándose en un potente agente bactericida, viricida y fungicida.

La aplicación fundamental de la mieloperoxidasa se refiere a la capacidad discriminatoria entre celularidad blástica mieloide y linfoide, ya que los mieloblastos muy precoces sin estigmas de diferenciación mieloide ya pueden ser mieloperoxidasa positivos.

Un déficit de mieloperoxidasa en los PMN maduros, excepto en el caso de que se trate de una deficiencia congénita, debe interpretarse como un signo disgranulopoyético.

FOSFATASA ALCALINA

La fosfatasa alcalina es una hidrolasa perteneciente al grupo de las fosfomonoesterasas; hidroliza monoésteres del ácido fosfórico, actuando a un pH de 9,1 a 9,6; ligeros \pm de pH determinan una rápida inactivación de la enzima. La demostración citoquímica se basa en la hidrólisis de ciertos substratos, de los cuales se liberan unos productos intermedios que combinados con una sal diazoica dan un precipitado coloreado.

La actividad de la FA granulocítica se manifiesta en forma de un precipitado pardo negruzco localizado en el citoplasma. Se encuentra actividad FA en algunas células maduras y semimaduras de la granulopoyesis neutrófila (bandas y segmentados).

No todos los granulocitos presentan el mismo grado de positividad; en función de este dato se establece un índice de actividad de FA. Se pueden distinguir tres tipos de reacción:

- grado 0: sin actividad enzimática.
- grado I: con cierta actividad enzimática en forma granular única o actividad débil difusa en una parte del citoplasma, especialmente en la zona perinuclear.



- grado II: intensa actividad granular o actividad difusa distribuida por todo el citoplasma granulocito.

Se realiza un recuento sobre 100 granulocitos asignando a cada uno un grado; y a cada grado se la asocia un valor: grado 0=0, grado I=1, grado II=2. Se suman los valores y el número obtenido es el índice de FAG, que tiene un valor mínimo de 0 y máximo de 200. El índice normal oscila entre 20 y 40.

Su máximo interés se centra en el estudio de los síndromes mieloproliferativos, sobre todo para corroborar el diagnóstico de LMC para la que se designan valores muy bajos o nulos. Su determinación es muy útil para establecer el diagnóstico diferencial entre LMC y reacciones neutrofílicas secundarias que cursan con valores elevadísimos.

FOSFATASA ÁCIDA

Es una enzima hidrolítica perteneciente al grupo de las fosfomonoesterasas, que actúa sobre los ésteres del ácido fosfórico; su pH óptimo de actuación oscila entre 4,7 y 5,5. Se trata de una enzima de ubicación lisosómica.

La demostración citoquímica se basa en la hidrólisis del substrato naftol-AS-Bi-fosfato, liberándose unos productos intermedios que al combinarse con una sal diazoica dan un precipitado de color rojo anaranjado en el citoplasma.

La aplicación práctica del estudio de la FA se refiere sobre todo a los SLPC y LAL, dónde existe una buena correlación entre el tipo de positividad y el fenotipo de membrana. El 90% de las LAL de origen T dan una reacción + intensa de localización centrosómica; y las de tipo B o no-T-no-B suelen ser -. La LLC-T y otros SLPC T suelen cursar con valores elevados de FA que es tartrato sensible. La LLC-B presenta muy escasa actividad al igual que ocurre con otras proliferaciones de linfocitos B.

La tricoleucemia (o leucemia de células peludas es un síndrome linfoproliferativo crónico de células B) es un proceso linfoproliferativo en que el estudio de la FA ofrece un particular interés por cuanto la actividad enzimática



a pesar de ser una célula linfoide es difusa, intensa y tartrato resistente. Se utiliza para demostrar la isoenzima 5 en el tricoleucocito.

De todas formas, con el advenimiento de los anticuerpos monoclonales, la técnica citoquímica en el estudio de los síndromes linfoproliferativos crónicos ha perdido predicamento.

ESTERASAS

Son un grupo de enzimas lisosomales presentes en cantidades variables en muchas células sanguíneas. Ellas hidrolizan ésteres orgánicos y liberan el alcohol (naftol), el cual se acopla a una sal diazoica para formar un azocolorante que se deposita sobre el sitio de actividad enzimática. Existen diferentes variedades según el sustrato empleado.

Se utilizan 4 sustratos: naftol-AS-C-cloroacetato, naftol-AS-D-acetato, alfa-naftil-acetato, alfa-naftil-butirato, los cuales al ser hidrolizados en presencia de una sal diazoica dan un precipitado insoluble en el lugar de la reacción.

Las esterasas específicas (cloroacetatoesterasa o CAE) usan el sustrato naftol-AS-D cloroacetato y su actividad se atribuye a las isoenzimas 1,2,7 y 8. Las esterasas inespecíficas representan las isoenzimas 3, 4,5 y 6 y pueden usar varios sustratos: naftol AS-D acetato, alfa naftil acetato y alfa naftil butirato. El fluoruro de sodio es un potente inhibidor de las esterasas monocíticas.

Utilizando como sustrato el naftol-AS-C-cloroacetato (CAE) se detecta una esterasa que es específica de la granulopoyesis neutrófila en la que es + a partir del mieloblasto y se expresa en forma de un precipitado rojo anaranjado muy brillante. Su utilidad diagnóstica se centra básicamente en el reconocimiento de células blásticas mieloides, si bien su aparición es más tardía que la de la mieloperoxidasa aunque iguala a ésta en especificidad.

Utilizando como sustrato el naftol-AS-D-acetato, se obtiene una intensa positividad en la serie monocítica que, a diferencia de las restantes células hematopoyéticas, es fluoruro sensible. Dada su + más restrictiva es preferente



usar el substrato a -naftil-acetato o a -naftil-butilato para marcar la serie monocítica y sus precursores, cuya + es intensa y se manifiesta en forma de un precipitado difuso por todo el citoplasma.

UTILIDAD

1. Las reacciones de esterasas sirven para diferenciar la leucemia monocítica aguda de la mielomonocítica.
2. La reacción de PAS resulta útil para diferenciar las enfermedades linfoproliferativas benignas y malignas; para identificar las células elitroides anormales de la eritroleucemia; para identificar la célula de Sézary (Leucemia prolinfocítica T, células con núcleo cerebriforme).
3. El índice de fosfatasa alcalina sirve para discernir las reacciones leucemoides granulocíticas de la leucemia granulocítica crónica.
4. Diferencian los bastones de Auer de otras inclusiones cristalinas (son esterasa positivos, LMA).
5. Las reacciones de fosfatasa ácida sirven como marcadores para las células vellosas de la reticuloendoteliosis leucémica.

Fuente

- Libro Cuestiones en Hematología edición 2002, editorial Elsevier, España, ISBN: 8481746088
- Manual Amir Hematología – edición 2009
- Manual CTO Hematología séptima edición, autor grupo CTO.
- Manual de Laboratorio de Hematología de la facultad de medicina de la Universidad de Panamá. Autor: Dr. Altafulla 2003.

6. Observaciones:

7. Conclusiones



Guía de práctica N° 08:

CITOMETRIA: ESTUDIO GRAFICO DEL CUADRO HEMATICO

Sección :	Apellidos :
Docente : Lic. Efraín Montes Hajar	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 180 minutos
	Tipo de práctica: Individual () Grupal (X)

Instrucciones: Observar las normas de bioseguridad

1. Tema: Citometria: estudio gráfico del cuadro hemático.

2. Propósito/objetivo/logro/hipótesis:

Interpretar los resultados por gráficos de las células sanguíneas en las diferentes cuadros hemáticos y patologías.

3. Equipos y materiales a utilizar:

- **Analizador Hematológico Automatizado Sysmex XN 1000**
- Microscopio Eléctrico binocular
- Láminas coloreadas con Wright
- Aceite de inmersión
- Papel lente
- Alcohol isopropílico
- colorantes más utilizados
- resultados de pacientes en hematimetría en impresiones



4. Notas de seguridad: Tener en cuenta las normas de bioseguridad, y contar con los herramientas de control de calidad.

5. Procedimiento experimental :

Se estudiará los principios de: Impedancia eléctrica; dispersión y absorción de luz, la tecnología que utiliza la radiofrecuencia o luz electromagnética de alta frecuencia constituye la base para la fabricación de equipos de cuarta y quinta generación. Utilizando alta tecnología.

IMPEDANCIA ELECTRICA

Se basa en la ley de Ohm y utiliza la propiedad de las células de ser malas conductoras de la electricidad.

- U = voltaje
- R = resistencia
- I = corriente

Si I es constante U tendrá variaciones proporcionales a la variación de R . esto significa que si establece una corriente continua entre dos electrodos y al haber vacío se hace pasar a través de esta corriente una célula que se encuentra diluida en una solución isotónica, conductora y des particularizada, la mala conducción de electricidad de la célula hace que se produzca un aumento en la resistencia (R) y se genere un pulso. Este pulso se traduce en un cambio en el voltaje y su tamaño es proporcional al de la célula. Así como el número total de pulsos contados es igual al número de células en la dilución.

El sistema está compuesto por:

- electrodos interno y externo, cámara de reacción y orificio o poro de apertura.
- sistema de vacío, dilutor isotónico y sistema transductor. Discriminadores,
- Haz de luz monocromática 550 nm, el cual aunque no hace parte del sistema de impedancia. es un complemento que permite la lectura de hemoglobina.



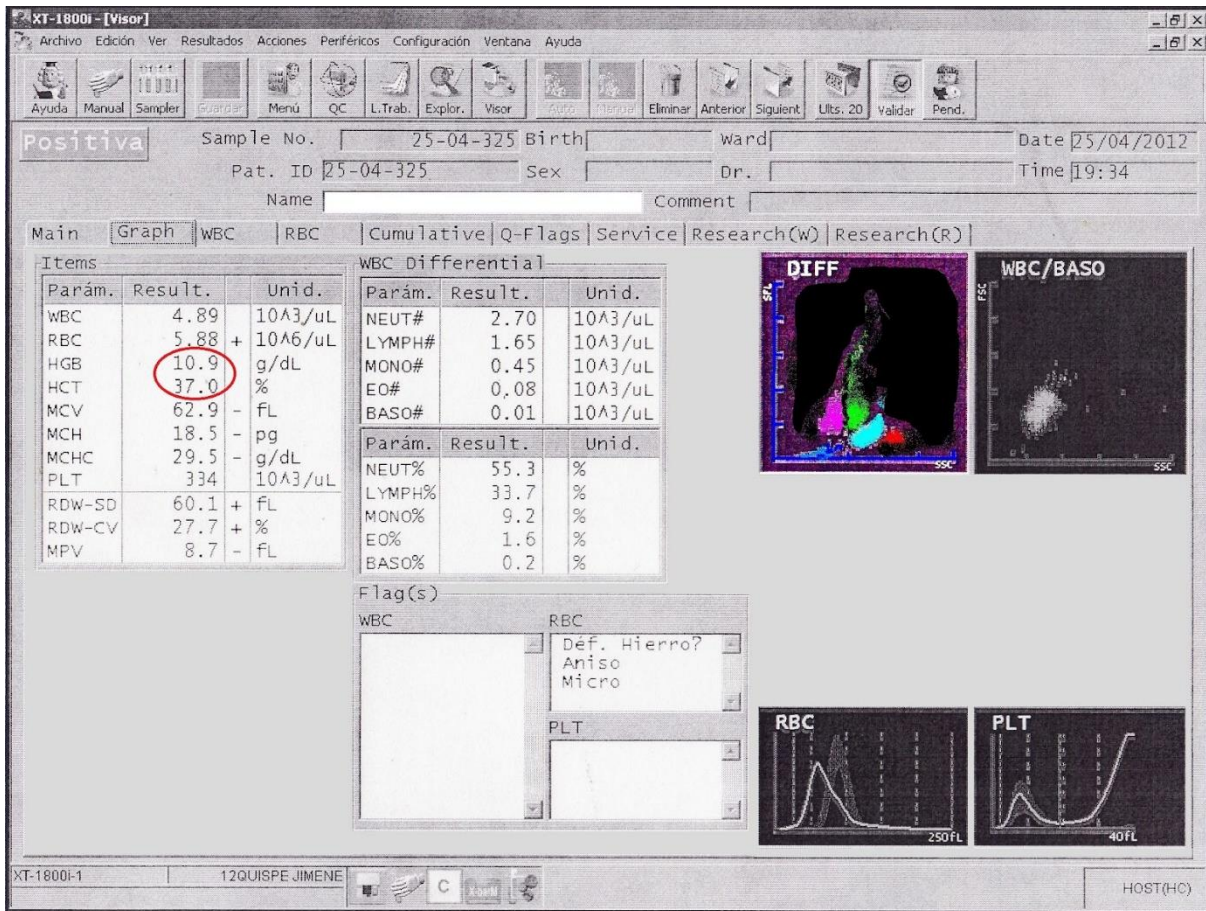
MATERIALES

- agente lisante
- líquido dilutor isotónico, conductor de electricidad y desparticulizado
- agente limpiador.
- corridas impresas de los resultados
- casos clínicos planteados

PROCEDIMIENTO:

Las corridas de los diferentes casos para su interpretación obedece a:

1. toma de muestra de sangre periférica según sea el caso de estudio planificado.
2. homogenizar las muestras con el anticoagulante EDTA, de 8 a 10 veces si el procedimiento es manual y en caso que sea totalmente automatizado el analizado homogeniza internamente.
3. programar el análisis planificado en te caso el proceso de la hematimetría. Completa priorizando estirpe de la serie roja en recuento celular y los índices eritrocitarios a evaluar.
- 4.- esperar los resultados del analizador SYSMEX XN 1000 emite

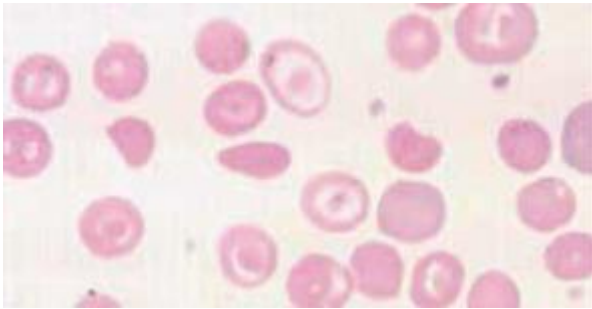
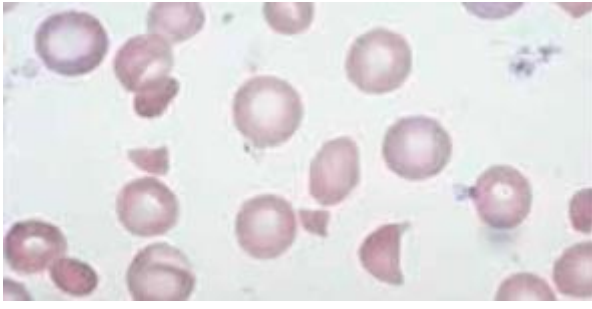
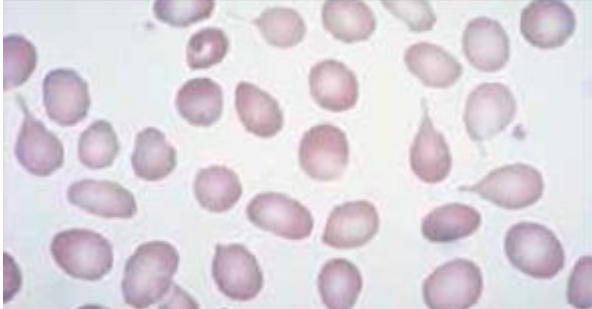
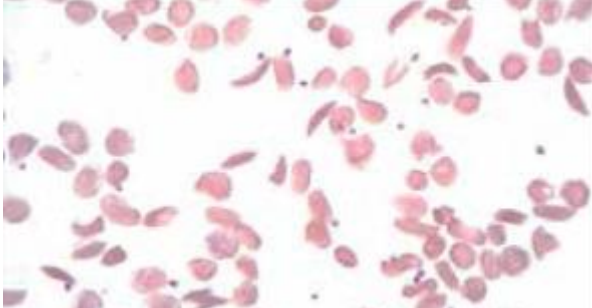


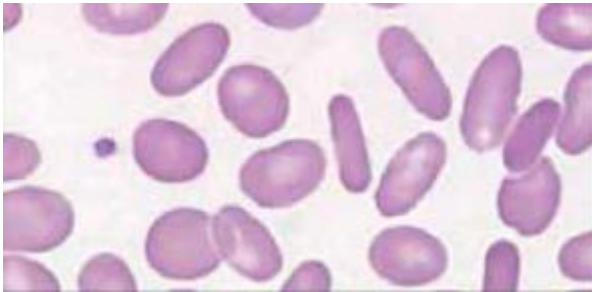
5.- interpretación según los casos planteados

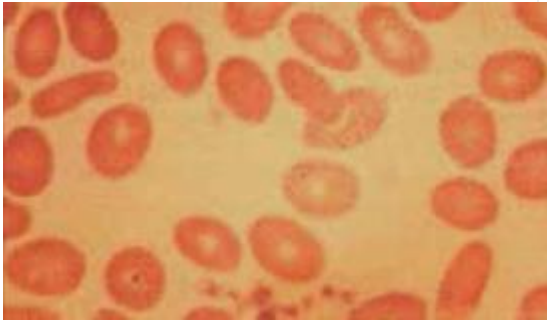
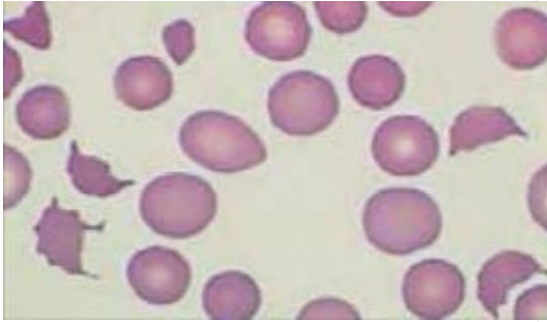
Tabla 2.

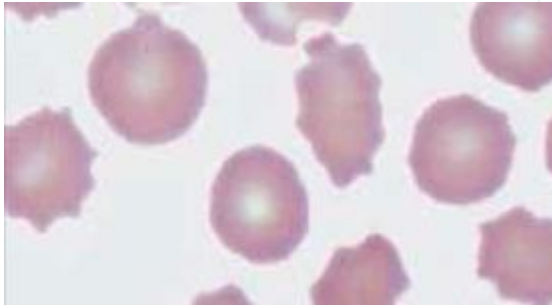
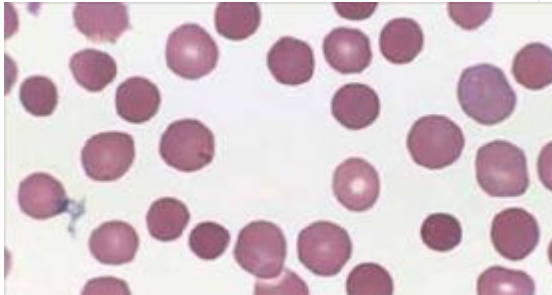
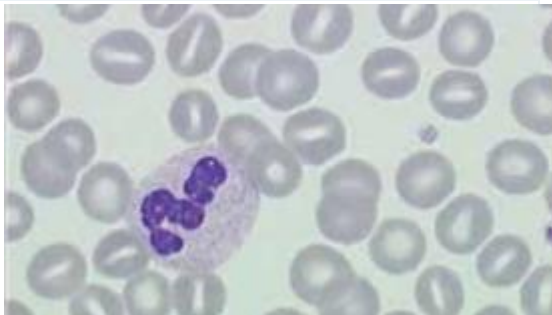
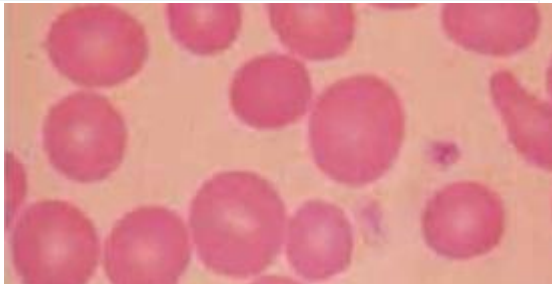
Alteraciones morfológicas de los eritrocitos

Nomenclatura	Cuadros Hematológicos	Imagen
Consenso	Equivalente	
Acantocitos	Espinoso, en espuela espiculado Anemia hemolítica microangiopática, hepatopatías alcohólicas, acantocitosis hereditarias, abetalipoproteine	

Nomenclatura		Cuadros Hematológicos	Imagen
Consenso	Equivalente		
		mia	
Codocitos	Dianocitos, target cell	Hepatopatía obstructiva, Hb SS, CS, talasemia	
Queratocitos	Células en casco	PTT, CID, síndrome urémico hemolítico, anemia hemolítica microangiopática	
Dacriocitos	Células en lágrimas	Mielofibrosis, eritropoyesis ineficaz, talasemia, anemia megaloblástica	
Drepanocitos	Falciformes, sickle cell	Anemia falciforme, Hb CS, HB S -tal	

Nomenclatura		Cuadros Hematológicos	Imagen
Consenso	Equivalente		
Eliptocitos		Eliptosis hereditaria, ferropenia, talasemia	

Nomenclatura		Cuadros Hematológicos	Imagen
Consenso	Equivalente		
Ovalocitos		Anemia megaloblástica	
Esquistocitos	Esquizocitos	Anemia hemolítica microangiopática, hemólisis de fragmentación	

Nomenclatura	Equivalentes	Cuadros Hematológicos	Imagen
Consenso			
Equinocito	Crenocitos	Insuficiencia renal, déficit de piruvatoquinasa, artefacto	
Esferocitos		Esferocitosis hereditaria, anemia hemolítica TCD+, hemólisis de fragmentación	
Estomatocitos		Estomatocitosis hereditaria, hepatopatía obstructiva, alcoholismo, cirrosis, artefacto	
Megalocitos	Macroovalocitosis	Anemia megaloblástica	



Fuente

1. Vives Corrons J., capítulo 5, Métodos para el recuento, automatizado de células sanguíneas, Vives Corrons J., Aguilar J. Manual de Técnicas de laboratorio en Hematología, 4ª edición, Barcelona, Editorial Masson, 2014: 149-152.
2. Miers M., capítulo 39, Automatización en el recuento celular. Equipamiento para el recuento celular automatizado. Rodak B., Fritsma G., Keohane E., Hematología Fundamentos y aplicaciones clínicas, 4ª edición, México, Editorial Médica Panamericana, 2014, p.694.
3. Vives Corrons J., capítulo 3, Examen morfológico de las células sanguíneas, Vives Corrons J., Aguilar J., Manual de Técnicas de laboratorio en Hematología, 4ª edición, Barcelona, Editorial Masson, 2014: p.59.
4. Ryan D., capítulo 2, Estudio de la Sangre Periférica. Beutler E., Lichtman M., Coller B., Kipps T., Seligsohn U., Williams Hematología, 6ª edición, Madrid, Editorial Marbán, 2007, p.10.
5. CLSI EP 28-A3C 2010 Defining, establishing and verifying Reference Intervals in the Clinical laboratory: approved guideline- Third Edition.
6. Gil J., capítulo 3, El Hemograma, Gil J., Hematología sin microscopio: El hemograma en la práctica clínica, 2ª edición, Barcelona, editorial EGEDSA, 2006: 7-33.
7. Panizo C, Ortuño F., capítulo 2, Introducción a la evaluación del Hemograma, Panizo C., Lecumberri R., Rodríguez P., Interpretación básica de las pruebas de laboratorio de Hematología. Asociación Española de Hematología y Hemostasia. Editorial Acción Médica, 2009:19-21.
8. CLSI H26-P2 2009 Validation, Verification and Quality assurance of automated Hematology analyzers;proposed Standard. Clinical and laboratory Standards Institute.



6. Observaciones:

7. Conclusiones:

.



Guía de práctica N° 09:

CITOMORFOLOGIA DE LAS NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS

Sección :	Apellidos :
Docente : Lic. Efraín Montes Hajar	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 180 minutos
	Tipo de práctica: Individual () Grupal (X)

Instrucciones: Observar las normas de bioseguridad

1. Tema: Citometria: estudio gráfico del cuadro hemático.

2. Propósito/objetivo/logro/hipótesis:

Identificar las características de las células neoplásicas del síndrome mieloproliferativa

3. Equipos y materiales a utilizar:

- **Analizador Hematológico Automatizado Sysmex XN 1000**
- **Microscopio Eléctrico binocular**
- **Láminas coloreadas con Wright**
- **Aceite de inmersión**
- **Papel lente**
- **Alcohol isopropílico**
- **colorantes más utilizados**
- **resultados de pacientes en hematimetría en impresiones**
- **evaluación de los escategramas**



4. Notas de seguridad: Tener en cuenta las normas de bioseguridad, y contar con las herramientas de Evaluación citológica de las células neoplásicas.

4. Procedimiento experimental :

Se estudiará los principios de: Impedancia eléctrica; dispersión y absorción de luz, la tecnología que utiliza la radiofrecuencia o luz electromagnética de alta frecuencia orientados a desarrollar las características de las células neoplásicas del síndrome mielo proliferativo.

CARACTERISTICAS CITOMORFOLOGICAS DE LA SERIE BLANCA (MIELOIDE)

Las leucemias mieloides son **neoplasias malignas del Sistema Hematopoyético**.

Como las neoplasias en general, las células leucémicas:

- Proliferan de manera independiente de sus factores de crecimiento (producidos por las células estromales de su microambiente)
- Tampoco responden a factores que las inhiben pues están protegidas de la *apoptosis*.
- Esta autonomía en la reproducción celular se debe a mutaciones en los genes que codifican para:
 - factores de crecimiento
 - factores de transcripción
 - proteínas fosforiladoras(que meten a la célula en ciclo celular)
 - factores inhibidores de la apoptosis
 - factores inhibidores del ciclo celular

El término LEUCEMIA significa "aumento de leucocitos neoplásicos en la sangre", por lo cual es un término inapropiado.

Las LEUCEMIAS son neoplasias clónales que provienen de una sola célula maligna original la cual tiene una gran capacidad proliferativa, como la CTH ó las CFC:



Las leucemias pueden ser agudas ó crónicas.

El sistema está compuesto por:

LEUCEMIAS CRÓNICAS

- En las Leucemias Crónicas, las células neoplásicas maduran terminalmente
 - No producen la muerte en las etapas iniciales
 - El número de células maduras es normal ó aumentado
- Según el predominio de la línea celular hacia la cual maduran pueden distinguirse:

- ✚ **Leucemia Granulocítica Crónica**
- ✚ **Leucemia Mielomonocítica Crónica**
- ✚ **Policitemia Vera**
- ✚ **Trombocitemia esencial**
- ✚ **Mielofibrosis crónica idiopática con metaplasia mieloide.**

LEUCEMIA GRANULOCÍTICA CRÓNICA

La mutación original se llama **CTH** en una CTH, que **CTH** para terminalmente hacia todas las líneas celulares, pero lo hace de **predominantemente hacia la línea granulocítica, y frecuentemente hacia la megacariocítica.**



MATERIALES:



- Láminas coloreadas CFC **GEMM** y células mieloproliferativas
- muestras de sangre de pacientes con enfermedades mieloproliferativas
- atlas de células neoplásicas.
- fichas de historias clínicas
- algoritmos de resolución de casos clínicos

PROCEDIMIENTO:



Observar imágenes en laminillas y/ó diapositivas correspondientes con estas alteraciones.

ACTIVIDADES.

- Reporte de resultados

5. Observaciones:

6. Conclusiones:

.



Guía de práctica N° 10:

EL LABORATORIO EN EL DIAGNOSTICO DE LAS CITOPENIAS Y ANEMIAS REFRACTARIAS

Sección :	Apellidos :
Docente : Lic. Efraín Montes Hajar	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 180 minutos
	Tipo de práctica: Individual () Grupal (X)

Instrucciones: Observar las normas de bioseguridad

1. Tema: El laboratorio en el diagnóstico de las citopenias y anemias refractarias con sideroblastos.

2. Propósito/objetivo/logro/hipótesis:

Identificar las características de las citopenias y anemias refractarias con sideroblastos.

3. Equipos y materiales a utilizar:

- **Analizador Hematológico Automatizado Sysmex XN 1000**
- **Microscopio Eléctrico binocular**
- **Láminas coloreadas con Wright de muestra medular de sangre periférica**
- **Aceite de inmersión**
- **Papel lente**
- **Alcohol isopropílico**
- **colorantes más utilizados**
- **resultados de pacientes en hematimetría en impresiones**



- **evaluación de los escatogramas**

4. Notas de seguridad: Tener en cuenta las normas de bioseguridad, y contar con las herramientas de Evaluación citológica de las células neoplásicas.

5. Procedimiento experimental :

Síndrome Mielodisplásico. ... Generalidades Los SMD son un conjunto de enfermedades clonales de las células progenitoras hematopoyéticas caracterizados por: La presencia de hematopoyesis ineficaz. 1) Médula ósea (MO) normo o hiper celular. 2) Presencia de citopenias.

CITOPENIA Y ANEMIAS REFRACTARIAS CON SIDEROBLASTOS

Bajo la denominación **Síndromes Mielodisplásicos (o SMD)** se incluyen una serie de enfermedades que tienen como característica común que las células madre de la médula ósea, encargadas de fabricar todas las células de la sangre, tienen un defecto que les hace producir células anómalas, incapaces de realizar sus funciones habituales, y en menor cantidad de lo normal.

La alteración puede afectar a una, dos o las tres líneas celulares derivadas de la célula madre (**glóbulos blancos, glóbulos rojos y plaquetas**) y evolucionar al cabo de los años hacia una leucemia aguda (leucemia aguda postmielodisplásica).

En ocasiones los SMD son consecuencia de una anomalía genética previa, como ocurre en la **Anemia de Fanconi**. En otras, se trata de un trastorno adquirido secundario a un tratamiento con **radioterapia** o **quimioterapia**, o a la exposición prolongada al benceno, pesticidas o insecticidas. En la mayoría de los casos, no es posible hallar una causa que lo justifique.

La **incidencia** de los SMD aumenta con la edad, siendo la media de edad de aparición de 70 años y tan sólo el 10 % de los pacientes tienen menos de 50 años. Es más común entre los hombres que entre las mujeres. **Se diagnostican entre 30 y 50 nuevos casos por millón de habitantes y año.**

SEGÚN LA (FAB)



Tipo	Características
Anemia refractaria simple (ARS)	Anemia, ausencia de blastos
Anemia refractaria con sideroblastos en anillo	Anemia, presencia de blastos
Anemia refractaria con exceso de blastos (AREB)	5 - 20 % de blastos en médula ósea
AREB en transformación	Más de 20 % de blastos en médula
Leucemia mielomonocítica crónica	Entidad con perfil bien definido*

**SEGÚN LA OMS**

Tipo	Características
Citopenia refractaria con displasia unilínea	Sólo anemia, plaquetopenia o neutropenia
Anemia refractaria sideroblástica	Anemia, presencia de sideroblastos
Citopenia refractaria con displasia multilínea	
AREB tipo I	5 - 9 % blastos en médula ósea
AREB tipo II	>10 % de blastos en médula
SMD asociado a del(5q) aislada	(o síndrome 5q-)*
SMD inclasificables	

MATERIALES:

- Láminas coloreadas de patologías mielodisplásicas
- muestras de sangre de pacientes con enfermedades mieloproliferativas
- atlas de células neoplásicas.
- fichas de historias clínicas
- algoritmos de resolución de casos clínicos



PROCEDIMIENTO:

Observar imágenes en laminillas y/ó diapositivas correspondientes con estas alteraciones.

ACTIVIDADES.

- Reporte de resultados

6. Observaciones:

7. Conclusiones:



Guía de práctica N° 11:

ESTUDIO CITOMORFOLOGICO CITOQUIMICA DE LAS LEUCEMIAS MIELOIDE AGUDA

Sección :	Apellidos :
Docente : Lic. Efraín Montes Hajar	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 180 minutos
	Tipo de práctica: Individual () Grupal (X)

Instrucciones: Observar las normas de bioseguridad

1. Tema: El laboratorio en el diagnóstico de las leucemias mieloide aguda y neoplasias relacionadas a sus precursores

2. Propósito/objetivo/logro/hipótesis:

Identificar las características citomorfológicas – citoquímicas de las leucemias mieloide aguda y neoplasias relacionadas a sus precursores.

3. Equipos y materiales a utilizar:

- Analizador Hematológico Automatizado Sysmex XN 1000
- Microscopio Eléctrico binocular
- Láminas coloreadas con Wright de muestra medular de sangre periférica
- Aceite de inmersión
- Papel lente
- Alcohol isopropílico
- colorantes más utilizados
- resultados de pacientes en hematimetría en impresiones
- evaluación de los scategramas

4. Notas de seguridad: Tener en cuenta las normas de bioseguridad, y contar con las herramientas de Evaluación citológica de las células neoplásicas en



sangre periférica y medular.

5. Procedimiento experimental :

LEUCEMIAS AGUDAS

- En las leucemias agudas, las células neoplásicas no maduran teminalmente; generalmente maduran hasta la etapa de blasto ó un poco más allá.
- Para que se consideren agudas deben tener > 20% de blastos en M.O.
- Las células blásticas inhiben la proliferación de las clonas normales.
- Los pacientes tienen *anemia, plaquetopenia, granulocitopenia*.
- La muerte sobreviene por hemorragias, por la plaquetopenia e infecciones.

. **M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7**

ANÁLISIS MORFOLÓGICO Y CITOQUÍMICA

De la sangre medular se realizan extensiones en cristales para su tinción y examen al microscopio. Así se estudia la composición celular de la médula ósea y en el caso de la leucemia mieloide aguda, es la muestra que confirma el diagnóstico con la tinción panóptica habitual. Además, en una serie de tinciones citoquímicas en otros cristales del aspirado de médula se observa la reacción de los gránulos y otros elementos del citoplasma de las células blásticas con determinados reactivos. En concreto, la mieloperoxidasa permite diferenciar entre la leucemia mieloide aguda y otros tipos de leucemias agudas

MIELOPEROXIDASA

“TINCIÓN CITOQUÍMICA PARA MIELOPEROXIDASA “

La citoquímica constituye en la práctica hematológica un complemento indispensable de la morfología óptica convencional.

Su finalidad es estudiar la presencia de ciertos componentes químicos (enzimas o sustancias diversas) en el interior de las células sanguíneas tanto hematopoyéticas como circulantes en sangre periférica.



A menudo resulta difícil diferenciar los blastos leucémicos de la leucemia linfoblástica aguda de los de la leucemia mieloblastica (M1), monoblástica aguda (M5A) y la leucemia megacarioblástica aguda (M7) utilizando solamente extensiones con las coloraciones de May-Grünwald-Giemsa.

Recientemente se ha propuesto estudiar las leucemias agudas basándose en tres niveles secuenciales de investigación que son: los métodos citoquímicos en primer lugar, el inmunofenotipo intracelular en segundo lugar y por último el inmunofenotipo de membrana.

Diversos procedimientos de tinción citoquímica contribuyen a llevar a cabo esta distinción. Cuando se utilizan las reacciones citoquímicas adecuadas junto con el aspecto morfológico de las extensiones con tinción de Wright-Giemsa, puede establecerse un diagnóstico preciso en la mayoría de los casos. Desde el punto de vista técnico todas las reacciones citoquímicas tienen en común 3 etapas fundamentales: fijación, incubación y contraste.

Estas tinciones pueden realizarse sobre sangre periférica, extensiones de medula ósea, preparaciones de nódulos linfáticos u otros tejidos.

2. PRINCIPIO Y METODOLOGÍA.

La mieloperoxidasa se sintetiza en el retículo endoplásmico rugoso, de donde pasa a las cisternas del aparato de Golgi quedando localizada fundamentalmente en la granulación primaria o azurófila.

Dicha enzima se combina in vivo con peróxido de hidrógeno transformándose en un potente agente bactericida, viricida y fungicida. Así, muestra actividad en todos los estadios del desarrollo de los neutrófilos y se halla en los gránulos azurófilos. Los eosinófilos muestran una actividad intensa. Los linfocitos, basófilos y las formas eritroides no se tiñen.

La tinción citoquímica de mieloperoxidasa es fundamental en el diagnóstico diferencial de las leucemias agudas (positiva en las mieloblásticas y negativa en las linfoblásticas). La actividad peroxidasa puede faltar en algunos neutrófilos tóxicos de pacientes con infección y leucemia aguda, y en casos raros de deficiencia congénita de mieloperoxidasa.

La demostración citoquímica de esta enzima se basa en la acción oxidante de la peroxidasa sobre el substrato, bencidina, en presencia de peróxido de hidrógeno, apareciendo un precipitado amarillo ocre en el lugar del citoplasma en donde se ha producido la reacción.



3. LISTA DE REQUERIMIENTOS

3.1 Reactivos.

NUM	NOMBRE DEL REACTIVO	CONCENTRACIÓN	CANTIDAD
1	Formol	37%	10ml
2	Etanol absoluto		90ml
3	Dihidrocloruro de bencidina		0.3g
4	ZnSO ₄ .7H ₂ O	3.8%	1ml
5	Acetato de sodio3H ₂ O		1g
6	H ₂ O ₂	3%	0.7ml
7	NaOH	1.0N	1.5ml
8	Safranina		0.2g

3.2 Equipo de Laboratorio

Balanza granataria

Balanza analítica

3.3 Material de Laboratorio

CANTIDAD	DESCRIPCIÓN
2	Vasos de precipitados de 100 ml
2	Matraces aforados de 100 ml
1	Pipeta graduada de 10 ml
2	Pipetas graduadas de 5 ml
1	Pipeta graduada de 1 ml
2	Frascos de 250 ml
10	Frotis de sangre periférica



3.4 Preparación de los Reactivos

3.4.1 Solución Fijadora

Formol al 37%	10 ml
Etanol absoluto	90 ml

3.4.2 Solución Colorante

Modo de Preparación:

Etanol al 30% (v/v en agua)	100 ml
Dihidrocloruro de bencidina	0.3 g
ZnSO ₄ ·7H ₂ O al 3.8%	1 ml
Acetato de sodio 3H ₂ O	1 g
H ₂ O ₂ al 3%	0.7 ml
NaOH 1.0 N	1.5 ml
Safranina	0.2 g

Los reactivos se mezclan en el orden indicado. La bencidina a veces contiene un material insoluble. Al añadir el sulfato de zinc se forma un precipitado que se disuelve al añadir los demás reactivos. El pH de la solución debe ajustarse a 6.00 + 0.05. La solución se filtra y se guarda a temperatura ambiente; puede usarse de manera repetida por meses.

4. PROCEDIMIENTO.

4.1 Técnica:

- 4.1.1. Los frotis se fijan por un minuto con la solución formol etanol
- 4.1.2 Lavar con agua de la llave
- 4.1.3 Secar al aire PERFECTAMENTE
- 4.1.4 Sumergir en la solución colorante por 30 segundos.
- 4.1.5 Lavar con agua de la llave
- 4.1.6 Contrateñir por 30 segundos con solución acuosa de safranina al 1%
- 4.1.7 Lavar con agua de la llave
- 4.1.8 Secar al aire



4.1.9 Sellar con resina sintética y cubrir con cubreobjetos del #1

Actividades:

-Practicar la tinción citoquímica para Mieloperoxidasa con frotis de sangre periférica.

MATERIALES:

- Láminas coloreadas de patologías mieloproliferativas
- muestras de sangre de pacientes con enfermedades mieloproliferativas
- atlas de células neoplásicas.
- fichas de historias clínicas
- algoritmos de resolución de casos clínicos
- reactivos previstos para el examen citoquímico (mieloperoxidasa)

PROCEDIMIENTO:

Observar imágenes en laminillas y/o diapositivas correspondientes con estas alteraciones.

ACTIVIDADES.

- Reporte de resultados

6. Observaciones:



7. Conclusiones:



Guía de práctica N° 12:

ESTUDIO CITOMORFOLOGICO CITOQUIMICA DE LAS LEUCEMIAS LINAJE LINFOIDE

Sección :	Apellidos :
Docente : Lic. Efraín Montes Hajar	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 180 minutos
	Tipo de práctica: Individual () Grupal (X)

Instrucciones: Observar las normas de bioseguridad

1. Tema: El laboratorio en el diagnóstico de las leucemias del Linaje Linfoide relacionadas a sus precursores

2. Propósito/objetivo/logro/hipótesis:

Identificar las características citomorfológicas – citoquímicas de las leucemias linfoide y neoplasias relacionadas a sus precursores.

3. Equipos y materiales a utilizar:

- **Analizador Hematológico Automatizado Sysmex XN 1000**
- **Microscopio Eléctrico binocular**
- **Láminas coloreadas con Wright de muestra medular de sangre periférica**
- **Aceite de inmersión**
- **Papel lente**
- **Alcohol isopropílico**
- **colorantes más utilizados**
- **resultados de pacientes en hematimetría en impresiones**
- **evaluación de los scategramas**

4. Notas de seguridad: Tener en cuenta las normas de bioseguridad, y contar con las herramientas de Evaluación citológica de las células neoplásicas en sangre periférica y medular.



5. Procedimiento experimental :

1.1 LEUCEMIAS LINFOIDES

La clasificación FAB señala 3 tipos fundamentales: L1, L2, y L3, independientemente de su inmunofenotipo.

Leucemia L1. Corresponden al tipo más común de leucemia aguda infantil y es la que tiene el mejor pronóstico de las 3.

Leucemia L2. Tienen un peor pronóstico que las L1

Leucemia L3. Casi todos los casos corresponden a células Tienen mal pronóstico

2. PRINCIPIO Y METODOLOGÍA.

2.1 Criterios para el diagnóstico de la Leucemia L1.

- blastos muy pequeños, en donde el núcleo ocupa la mayor parte de la superficie y por lo tanto hay muy escaso citoplasma, el cual carece de vacuolas ó presenta muy escasas;
- hay homogeneidad en cuanto al tamaño celular y densidad cromatínica;
- la cromatina es fina, aunque no tanto como la de los mieloblastos-
- Ocasionalmente, la cromatina es gruesa y pueden confundirse con linfocitos pequeños.
- Los linfoblastos ocasionalmente adquieren forma de "raqueta de mano".

2.2 Criterios para el diagnóstico de la Leucemia L2.

- Células muy variables en tamaño
- Las células más grandes tienen cromatina fina y nucléolos bien demarcados, como los de los mieloblastos; las de tamaño intermedio, tienen cromatina más gruesa, y las más pequeñas, tienen cromatina condensada.
- Con frecuencia, los núcleos tienen múltiples indentaciones "cerebriformes" (en cuyo caso, si se acompañan de gránulos positivos a la fosfatasa ácida y a a-naftil acetato esterasa, corresponden a leucemias T y tienen un mal pronóstico).
- Citoplasma más abundante que en las L1, generalmente sin gránulos y con pocas ó ninguna vacuola.

2.3 Criterios para el diagnóstico de la Leucemia L3

- Células muy características, con citoplasma basófilo repleto de vacuolas claras, que contienen lípidos neutros, positivas con rojo oleoso y PAS negativas
- Núcleos con cromatina fina granular y enormes nucléolos.



- Las células son morfológica e inmunofenotípicamente indistinguibles de las que proliferan en el linfoma de Burkitt.

3. EVALUACIÓN DE FROTIS DE S.P. CON LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÓNICA Y LEUCEMIA DE CÉLULAS PELUDAS”

3.1. INTRODUCCIÓN.

Leucemia Linfocítica Crónica B

Esta es la más común de las leucemias linfoides. Cursa con linfocitosis notable. En ella, el resto de la hematopoyesis se conserva normal. Se presenta con crecimiento ganglionar bilateral. El **Linfoma de Linfocitos bien diferenciados** es la manifestación tisular (ganglionar) de la misma enfermedad. Los linfocitos tienen pocas inmunoglobulinas de superficie.

Leucemia de Células Peludas

Las tricoleucemias o leucemia de células peludas se presentan generalmente con esplenomegalia, **sin** linfadenomegalias y con anemia ó citopenias. Las células proliferantes tienen una morfología característica que ayuda a su diagnóstico.

3.2. PRINCIPIO Y METODOLOGÍA.

3.2.1 Criterios para el diagnóstico de la leucemia Linfocítica Crónica B.

- Hallazgo de linfocitosis y linfadenomegalias en pacientes de más de 50 años de edad, sin otra causa de linfocitosis.
- Rasgos Morfológicos: numerosos linfocitos pequeños con escaso citoplasma, cromatina gruesa, “segmentada”, como rebanadas de pastel.
- En su evolución pueden aparecer *prolinfocitos* acompañados por citopenias variables.
- Inmunofenotípicamente, los linfocitos son positivos a CD19, CD20 y a CD5; éste último los caracteriza por tener la capacidad de formar autoanticuerpos.

3.2.2 Criterios para el diagnóstico de la Leucemia Linfocítica Crónica T CD8+ o de Linfocitos Grandes Granulares.



- Linfocitosis menos notable.
- Células con gránulos azurófilos citoplásmicos y cromatina gruesa, pero no segmentada.
- Linfocitos con capacidad de inhibir la proliferación de células hematopoyéticas.
- El cuadro leucémico se acompaña de neutropenia ó pancitopenia.
- Inmunofenotípicamente son células positivas a CD2, CD3 y CD8

3.2.3 Criterios para el diagnóstico de la Leucemia de Células Peludas.

- Rasgos morfológicos característicos de ayuda al diagnóstico por bases morfológicas:
 - Células pequeñas
 - Citoplasma muy pálido y con muchas microvellosidades filiformes
 - Núcleos pequeños como los de los linfocitos, pero cromatina no tan densa.
- Las células tienen característicamente gránulos con fosfatasa ácida **resistente al ácido tartárico**.
- La médula ósea es difícil de aspirar, ya que, como es típico, tiene fibrosis.
- Inmunofenotípicamente son positivas para CD19 y CD20, CD11 y CD25.

3.3. LISTA DE REQUERIMIENTOS.

3.3.1 Equipo de Laboratorio

Microscopio de Luz

3.3.2 Materiales de Laboratorio

CANTIDAD	DESCRIPCIÓN
1	Frotis de sangre periférica teñido con Wright y/ó diapositivas
1	Aspirado de médula ósea teñido con Wright y/ó diapositivas



4. PROCEDIMIENTO. Observar imágenes en laminillas y/ó diapositivas correspondientes con estas alteraciones.

5. ACTIVIDADES.

- Reporte de resultados. _____

6. Observaciones:

7. Conclusiones:



Guía de práctica N° 13:

PRUEBAS DE FUNCION PLAQUETARIA

Sección :	Apellidos :
Docente : Lic. Efraín Montes Hajar	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 180 minutos
	Tipo de práctica: Individual () Grupal (X)

Instrucciones: Observar las normas de bioseguridad

1. Tema: El laboratorio en el estudio de la función plaquetaria

2. Propósito/objetivo/logro/hipótesis:

Identificar las características de la función plaquetaria en el antebrazo método estándar .

3. Equipos y materiales a utilizar:

- Esfignonanometro
- Bisturí
- Gasa estéril
- Papel absorbente
- Cronómetro
- Alcohol etílico 70°
- Centímetro
- Hoja de reporte

4. Notas de seguridad: Tener en cuenta las normas de bioseguridad, y contar con las herramientas de Evaluación para la función plaquetaria.



5. Procedimiento experimental :

1.1 TIEMPO DE SANGRIA METODO ESFIGNONANOMETRO

Utilidad.

Un test de tamizaje utilizado para evaluar la función capilar; el número y función plaquetaria, y la habilidad de las plaquetas para adherirse a las paredes de los vasos y formar el coágulo. Uso en la evaluación de equimosis, magulladuras espontáneas y sangrado o tendencia al sangrado. En algunos pacientes puede estar prolongado por la ingestión de aspirina, en desordenes cualitativos de plaquetas (enfermedad de Von Willebrand, síndrome de Bernard-Soulier, tromboastenia de Glanzmann y síndrome de las plaquetas grises), desordenes del fibrinógeno, macroglobulinemia, algunos casos de enfermedad mielo proliferativa, falla renal, y con anomalías de los vasos sanguíneos. Existe una evidencia inconclusa de que el tiempo de sangría es un buen predictor de hemorragia operatoria en pacientes con una historia negativa de diátesis hemorrágica.

El test deberá ser realizado con menos de 10 días después de la última dosis de medicinas que contengan aspirina. Recuento bajo de plaquetas o aspirina prolongan el tiempo de sangría. Puede estar prolongado en pacientes con cambios seniles en la piel en presencia de función plaquetaria normal. El tiempo de sangría está prolongado tanto en la forma adquirida o constitucional de síndrome de Von-Willebrand. El tiempo acortado puede relatar disproteinemia asociada con enfermedad linfoproliferativa. Existe tiempo de sangría prolongado en algunos pacientes con falla renal avanzada quienes sin embargo tienen los parámetros de función plaquetaria intactos. Puede acortarse en pacientes con uremia si se administrado subcutánea o I.V vasopresina 1-deamino-8-D-arginina (DDAVP). El tiempo de sangría tiene aplicación como marcador de la actividad trombolítica en pacientes tratados con estreptoquinasa para trombosis venosa profunda. La administración oral de estrógenos conjugados parece disminuir el tiempo de sangría. El síndrome de plaquetas grises es una deficiencia hereditaria autosómica recesiva del contenido alfa de los gránulos de las plaquetas. Esta está asociada con una prolongación modesta del tiempo de sangría, plaquetas grandes degranuladas de color gris pálido en el extendido de sangre periférica, aumento de la beta-tromboglobulina del plasma, disminución del factor 4 de las plaquetas y disminución de la agregación plaquetaria con epinefrina, ADP, trombina y colágeno. La agregación con ristocetina es normal. La depleción de los gránulos alfa también ha sido reportada con bypass coronario.



2. TECNICA

Colocar el tensiómetro en el antebrazo y ajustar la presión a 40 mm Hg. Después de haber realizado una asepsia adecuada con alcohol seque el sitio de la punción, mantenga la piel tesa y coloque la lanceta en sentido de la piel para realizar una incisión vertical, inmediatamente después coloque el cronómetro y contabilice el tiempo que se demora en parar el sangrado. La recolección de cada gota de sangre se realiza cada 30 segundos.

VALOR REFERENCIAL

Adultos = 2.5 - 10 minutos

En niños 1 - 10 años = 2.5 - 13 minutos

En niños 11-16 años = 3 - 8 minutos<

4. PROCEDIMIENTO. Observar imágenes en laminillas y/ó diapositivas correspondientes con estas alteraciones.

5. ACTIVIDADES.

- Reporte de resultados. _____

6. Observaciones:



7. Conclusiones:

.



Guía de práctica N° 14:

PERFIL DE COAGULACION EN PATOLOGIAS DIVERSAS

Sección :	Apellidos :
Docente : Lic. Efraín Montes Hajar	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 180 minutos
	Tipo de práctica: Individual () Grupal (X)

Instrucciones: Observar las normas de bioseguridad

1. Tema: El laboratorio en el estudio de Coagulación sanguínea en enfermedades asociados al trastorno de la coagulación

2. Propósito/objetivo/logro/hipótesis:

Identificar el comportamiento del perfil de la coagulación sanguínea en en las enfermedades diversas y neoplásicas

3. Equipos y materiales a utilizar:

- **Analizador De Hemostasia Automatizado**
- **Tubos de ensayo citratados**
- **Equipo de toma de muestra**
- **Reactivos de Hemostasia**
- **Pipetas automáticas graduables**
- **Punteras**
- **Cubetas de reacción**
- **hoja de reporte**

4. Notas de seguridad: Tener en cuenta las normas de bioseguridad, y contar con las herramientas de Evaluación para la función Perfil de coagulación.



5. Procedimiento experimental :

5.1 PERFIL DE COAGULACION

Utilidad.

Las pruebas de Coagulación contemplan los siguientes exámenes: ⌘ Tiempo de Protrombina (TP) ⌘ Tiempo Parcial de Tromboplastina Activada (TTPK o TTPA) ⌘ Tiempo de Coagulación ⌘ Tiempo de Sangría Otros exámenes de coagulación son el Fibrinógeno, los Productos de Degradación del Fibrinógeno (PDF), el Anticoagulante Lúpico, la Antitrombina III y los estudios completos de Trombofilia. Estos exámenes son más específicos y no son parte de la rutina de los exámenes de coagulación. Dentro de los análisis de rutina, los exámenes de coagulación son los más sensibles a las condiciones de extracción de la muestra, preparación del paciente y transporte. Estas muestras se alteran fácilmente si no se realizan los procesos preanalíticos adecuados. De esta manera, un profesional experto en esta área, debe ser capaz de reconocer un resultado alterado y hacer la diferencia si éste es por alguna patología o por un error preanalítico.

5.2. TOMA DE MUESTRA:

⌘ Se utiliza sangre venosa ⌘ Los anticoagulantes son sustancias que previenen la formación de coágulos. Existen diferentes tipos de ellos en polvo o líquidos. Debe seleccionarse siempre el anticoagulante apropiado según el estudio que se quiera realizar. Las pruebas de coagulación se deben tomar en tubos con anticoagulante citrato, de tapa celeste. Los resultados de coagulación se ven fuertemente afectados por una mala relación sangre/anticoagulante, por lo que se debe tener especial cuidado al momento de llenar estos tubos.

⌘ Las muestras destinadas a la coagulación deben ser tomadas en segundo lugar, después de los tubos sin anticoagulante, si se utiliza sistema al vacío. Esto obedece a minimizar las contaminaciones con tromboplastina tisular (una proteína involucrada en el proceso de la coagulación). ⌘ Se debe cuidar de homogenizar completamente la muestra con el anticoagulante a fin de evitar la formación de pequeños coágulos que dañarían la calidad de la muestra. ⌘ Es recomendable tomar estas muestras con ayuno de 8 horas, si bien con tres horas de ayuno también es permitido. Esto a fin de evitar un plasma lipémico que interfiera con el análisis.



5.3. TIEMPO DE PROTROMBINA (PT):

Se define como el tiempo en segundos necesario para la formación del coágulo después de la adición de calcio y tromboplastina al plasma. El plasma debe ser separado de las células lo más rápido posible y refrigerarlo si no es procesado inmediatamente, teniendo en cuenta que su procesamiento debe hacerse antes de cuatro horas después de haber tomado la muestra. Su procesamiento se puede hacer de forma manual o automatizada. Este examen es el más frecuente de los que se realiza en estudios de coagulación. Es de extrañar que no estuviera en el protocolo de un pre-operatorio y es además el usado en los controles de Tratamiento Anticoagulante en forma rutinaria y su resultado normalmente requerido en el día para la toma de una conducta clínica (ajustar dosis de anticoagulante).

5.4. TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ACTIVADA (TPK, PTT o TTPA):

Se define como el tiempo en segundos necesario para formación de coágulo después de la adición de calcio y fosfolípidos al plasma citratado pobre en plaquetas. Su procesamiento se hace de forma manual o automatizada. Su uso principal radica en el control de la terapia anticoagulante y globalmente para conocer el tiempo de coagulación en un momento dado.

5.5 TIEMPO DE SANGRÍA:

El tiempo de sangría mide la interacción de las plaquetas con los vasos sanguíneos y la posterior formación del coágulo o tapón hemostático. Mide adecuadamente la fase vascular de la coagulación. No debe faltar en ningún estudio de coagulación, porque es un procedimiento simple que alerta deficiencias plaquetarias, para intensificar su estudio. Se toma con una leve punción en el antebrazo o lóbulo de la oreja (Duke, esta descontinuado, pero a veces se solicita y por esto es necesario conocerlo), recogiendo las gotas de sangre en un papel de filtro hasta que espontáneamente cesan. Se mide el tiempo que transcurre entre la aparición de la primera gota de sangre y la última. El método de Ivy es el más utilizado hoy en día y sus valores normales van de 3 a 11 minutos. En la Toma de Muestra es fundamental saber si el paciente estuvo ingiriendo fármacos anticoagulantes (ejemplo aspirina) o antiinflamatorios no esteroideos (por ejemplo ibuprofeno, naproxeno).



5.6. MATERIALES E INSUMOS REQUERIDOS

Sala de laboratorio y unidad de toma de muestra.

⊗ Equipo de coagulación con manual de usuario y guía de uso proporcionada por el proveedor.

⊗ Muestras para coagulación en las siguientes condiciones: Relación correcta anticoagulante/sangre, (tomada por los alumnos entre si Relación incorrecta anticoagulante/sangre (tomada por los alumnos entre si Mal almacenadas (por ejemplo sin separar el plasma por varias horas a temperatura ambiente, con coágulos, etc.)

- ⊗ Reactivos equipo de coagulación para TP, TTPK
- ⊗ Centrífuga ⊗ Tubos de vidrio de 3-4 ml
- ⊗ Insumos necesarios para funcionamiento del coagulómetro, incluida impresora
- ⊗ Set de punción al vacío
- ⊗ Cajas de bioseguridad.
- ⊗ Guantes

6. PROCEDIMIENTO.

1. Identifique las muestras para coagulación en base al anticoagulante utilizado, transporte correcto y temperatura.
2. Centrifugar las distintas muestras
3. Separar el plasma de cada muestra identificando correctamente su origen (tipo de condición de la muestra)
4. Cargar las muestras separadas en el coagulómetro
5. Solicitar los test TP y TTPK
6. Poner En marcha el coagulómetro
7. Rescatar los resultados de cada muestra entregados por el equipo
8. Comparar los resultados de los distintos tipos de muestras versus la muestra control (aquella con buena relación anticoagulante/sangre y temperatura adecuada)

7. ACTIVIDADES.

- Reporte de resultados. _____



8. Observaciones:

9. Conclusiones:

10. Bibliografía

- 1.-Mannuccio Mannucci P. Hemostatic drugs. N Engl J Med 1998;: 339: 245-253. 7. Metz S, Horrow JC. Update on aprotinin and drugs to promote coagulation. Advances in Anesthesia 1996; 13: 355-392.
- 2.- Stack G and Snyder EL. Alternatives to perioperative blood transfusion. Advances in Anesthesia 1991; 8: 209-239.
3. Sabaté A, Acosta F, Garcia L, Sansano T, Dalmau A et al. Fibrinolysis and its treatment in orthotopic liver transplantation: the present situation. Transplantation 1997; 8: 87-93.
- 3.- . Keating M and Mooresville I. Current options and approaches for blood management in orthopaedic surgery. J. Bone and Joint Surg. 1998; 80-A: 750-762.
- 4.- Hardy JF and Bélisle S. Natural and synthetic antifibrinolytics in adult cardiac surgery: efficacy, effectiveness and efficiency. Can J Anaesth 1994; 41: 1104-1112.
5. - Fremes SE, Wong BI, Lee E, Mai R, Christakis G, McLean RF et al. Metaanalysis of prophylactic drug treatment in the prevention of postoperative bleeding. Ann Thorac Surg 1994; 58: 1580- 1588.



Guía de práctica N° 15:

PERFIL DE COAGULACION EN PATOLOGIAS DIVERSAS

Sección :	Apellidos :
Docente : Lic. Efraín Montes Hajar	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 180 minutos
	Tipo de práctica: Individual () Grupal (X)

Instrucciones: Observar las normas de bioseguridad

4. Tema: El laboratorio en el estudio de Coagulación sanguínea en enfermedades asociados al trastorno de la coagulación

5. Propósito/objetivo/logro/hipótesis:

Identificar el comportamiento del perfil de la coagulación sanguínea en en las enfermedades diversas y neoplásicas

6. Equipos y materiales a utilizar:

- **Analizador De Hemostasia Automatizado**
- **Tubos de ensayo citratados**
- **Equipo de toma de muestra**
- **Reactivos de Hemostasia**
- **Pipetas automáticas graduables**
- **Punteras**
- **Cubetas de reacción**
- **hoja de reporte**



4. Notas de seguridad: Tener en cuenta las normas de bioseguridad, y contar con las herramientas de Evaluación para la función Perfil de coagulación.

11. Procedimiento experimental :

5.1 PERFIL DE COAGULACION

Utilidad.

Las pruebas de Coagulación contemplan los siguientes exámenes: ⌘ Tiempo de Protrombina (TP) ⌘ Tiempo Parcial de Tromboplastina Activada (TTPK o TTPA) ⌘ Tiempo de Coagulación ⌘ Tiempo de Sangría Otros exámenes de coagulación son el Fibrinógeno, los Productos de Degradación del Fibrinógeno (PDF), el Anticoagulante Lúpico, la Antitrombina III y los estudios completos de Trombofilia. Estos exámenes son más específicos y no son parte de la rutina de los exámenes de coagulación. Dentro de los análisis de rutina, los exámenes de coagulación son los más sensibles a las condiciones de extracción de la muestra, preparación del paciente y transporte. Estas muestras se alteran fácilmente si no se realizan los procesos preanalíticos adecuados. De esta manera, un profesional experto en esta área, debe ser capaz de reconocer un resultado alterado y hacer la diferencia si éste es por alguna patología o por un error preanalítico.

5.2. TOMA DE MUESTRA:

⌘ Se utiliza sangre venosa ⌘ Los anticoagulantes son sustancias que previenen la formación de coágulos. Existen diferentes tipos de ellos en polvo o líquidos. Debe seleccionarse siempre el anticoagulante apropiado según el estudio que se quiera realizar. Las pruebas de coagulación se deben tomar en tubos con anticoagulante citrato, de tapa celeste. Los resultados de coagulación se ven fuertemente afectados por una mala relación sangre/anticoagulante, por lo que se debe tener especial cuidado al momento de llenar estos tubos.

⌘ Las muestras destinadas a la coagulación deben ser tomadas en segundo lugar, después de los tubos sin anticoagulante, si se utiliza sistema al vacío. Esto obedece a minimizar las contaminaciones con tromboplastina tisular (una proteína involucrada en el proceso de la coagulación). ⌘ Se debe cuidar de homogenizar completamente la muestra con el anticoagulante a fin de evitar la formación de pequeños coágulos que dañarían la calidad de la muestra. ⌘ Es recomendable tomar estas muestras con



ayuno de 8 horas, si bien con tres horas de ayuno también es permitido. Esto a fin de evitar un plasma lipémico que interfiera con el análisis.

5.3. TIEMPO DE PROTROMBINA (PT):

Se define como el tiempo en segundos necesario para la formación del coágulo después de la adición de calcio y tromboplastina al plasma. El plasma debe ser separado de las células lo más rápido posible y refrigerarlo si no es procesado inmediatamente, teniendo en cuenta que su procesamiento debe hacerse antes de cuatro horas después de haber tomado la muestra. Su procesamiento se puede hacer de forma manual o automatizada. Este examen es el más frecuente de los que se realiza en estudios de coagulación. Es de extrañar que no estuviera en el protocolo de un pre-operatorio y es además el usado en los controles de Tratamiento Anticoagulante en forma rutinaria y su resultado normalmente requerido en el día para la toma de una conducta clínica (ajustar dosis de anticoagulante).

5.4. TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ACTIVADA (TTPK, PTT o TTPA):

Se define como el tiempo en segundos necesario para formación de coágulo después de la adición de calcio y fosfolípidos al plasma citratado pobre en plaquetas. Su procesamiento se hace de forma manual o automatizada. Su uso principal radica en el control de la terapia anticoagulante y globalmente para conocer el tiempo de coagulación en un momento dado.

5.5 TIEMPO DE SANGRÍA:

El tiempo de sangría mide la interacción de las plaquetas con los vasos sanguíneos y la posterior formación del coágulo o tapón hemostático. Mide adecuadamente la fase vascular de la coagulación. No debe faltar en ningún estudio de coagulación, porque es un procedimiento simple que alerta deficiencias plaquetarias, para intensificar su estudio. Se toma con una leve punción en el antebrazo o lóbulo de la oreja (Duke, esta descontinuado, pero a veces se solicita y por esto es necesario conocerlo), recogiendo las gotas de sangre en un papel de filtro hasta que espontáneamente cesan. Se mide el tiempo que transcurre entre la aparición de la primera gota de sangre y la última. El método de Ivy es el más utilizado hoy en día y sus valores normales van de 3 a 11 minutos. En la Toma de Muestra es fundamental saber si



el paciente estuvo ingiriendo fármacos anticoagulantes (ejemplo aspirina) o antiinflamatorios no esteroideos (por ejemplo ibuprofeno, naproxeno).

5.6. MATERIALES E INSUMOS REQUERIDOS

Sala de laboratorio y unidad de toma de muestra.

⊞ Equipo de coagulación con manual de usuario y guía de uso proporcionada por el proveedor.

⊞ Muestras para coagulación en las siguientes condiciones: Relación correcta anticoagulante/sangre, (tomada por los alumnos entre si Relación incorrecta anticoagulante/sangre (tomada por los alumnos entre si Mal almacenadas (por ejemplo sin separar el plasma por varias horas a temperatura ambiente, con coágulos, etc.)

- ⊞ Reactivos equipo de coagulación para TP, TTPK
- ⊞ Centrifuga ⊞ Tubos de vidrio de 3-4 ml
- ⊞ Insumos necesarios para funcionamiento del coagulómetro, incluida impresora
- ⊞ Set de punción al vacío
- ⊞ Cajas de bioseguridad.
- ⊞ Guantes

6. PROCEDIMIENTO.

1. Identifique las muestras para coagulación en base al anticoagulante utilizado, transporte correcto y temperatura.

2. Centrifugar las distintas muestras

3. Separar el plasma de cada muestra identificando correctamente su origen (tipo de condición de la muestra)

4. Cargar las muestras separadas en el coagulómetro

5. Solicitar los test TP y TTPK

6. Poner En marcha el coagulómetro

7. Rescatar los resultados de cada muestra entregados por el equipo

8. Comparar los resultados de los distintos tipos de muestras versus la muestra control (aquella con buena relación anticoagulante/sangre y temperatura adecuada)



7. ACTIVIDADES.

- Reporte de resultados. _____

8. Observaciones:

9. Conclusiones:



Guía de práctica N° 16:

TALLER DE CONTROL DE CALIDAD EN HEMATOLOGIA

Sección :	Apellidos :
Docente : Lic. Efraín Montes Hajar	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 180 minutos
	Tipo de práctica: Individual () Grupal (X)

Instrucciones: Observar las normas de bioseguridad

1. Tema: Taller de control de calidad en Hematología

2. Propósito/objetivo/logro/hipótesis:

Aplicar en el taller instrumentos y herramientas de control de calidad aplicados a las diferentes áreas de la hematología

3. Equipos y materiales a utilizar:

- Grupos de trabajo
- Listados de resultados por sector en hematología
- Papelógrafo
- Papel milimetrado
- Lápiz
- Colores
- Analizador Hematológico
- Pipetas automáticas graduables
- Analizador de Coagulación
- Microscopio
- Hoja de reporte
- Listado de resultados por sectores



- Controles y calibradores de células y de pruebas de hemostasia

4. Notas de seguridad: Tener en cuenta las normas de bioseguridad, y contar con las herramientas de Evaluación para la función Perfil de coagulación.

5. Procedimiento experimental :

a. CONTROL DE CALIDAD EH HEMATOLOGIA.

IMPORTANCIA:

Quien realiza las pruebas es el verdadero responsable de la calidad de los estudios y por ende, debe saber interpretar los resultados de muestras control y gráficos relativos.

El descubrimiento de un problema en un procedimiento analítico fuera de control se lleva cabo al evaluar los resultados al final del día o al revisar los gráficos mensuales días después del incidente El compromiso con el trabajo diario es una responsabilidad que involucra, todas las etapas que se requieren para la realización de una prueba (Preanalítica, analítica y Posan lítica)

5.2. FASE PRE ANALITICA

El propósito del control interno de la calidad es el de inspeccionar diversos aspectos de los procedimientos inspeccionar diversos aspectos de los procedimientos analíticos que se llevan a cabo en el laboratorio, suministra analíticos que se llevan a cabo en el laboratorio, suministra una vigilancia continua del trabajo del laboratorio y evalúa una vigilancia continua del trabajo del laboratorio y evalúa el resultado con el objetivo de decidir si ellos son los el resultado con el objetivo de decidir si ellos son los suficientemente confiables para ser emitidos. Es fundamental disminuir la imprecisión o error aleatorio y la fundamental disminuir la imprecisión o error aleatorio y la inexactitud o error sistemático de las determinaciones. Inexactitud o error sistemático de las determinaciones.

La precisión es la suma de todos los errores aleatorios que la precisión es la suma de todos los errores aleatorios que ocurren mientras se está llevando



a cabo el procedimiento. Ocurren mientras se está llevando a cabo el procedimiento. La suma usualmente se expresa como desviación estándar La suma usualmente se expresa como desviación estándar(DS) o coeficiente de variación (CV). (DS) o coeficiente de variación (CV).

Para valorar su magnitud se utiliza el control interno Para valorar su magnitud se utiliza el control interno de la calidad, el cual consiste en intercalar determinados calidad, el cual consiste en intercalar determinados materiales de control entre las muestras de los pacientes y materiales de control entre las muestras de los pacientes y evaluar la dispersión de los resultados obtenidos. evaluar la dispersión de los resultados obtenidos

5.3. FASE ANALITICA

1.- PRECISION:

Es el grado en que una medición es legible o especificada. Se expresa en % o unid med.

2.- VERACIDAD:

3.- LINEALIDAD:

: Es el grado en que el diagrama de una estimulación de entrada comparado con el diagrama de la respuesta a esta estimulación vista en la salida, se aproxima a una línea recta.

4.- ESPECIFICIDAD ANALITICA.

PROCEDIMIENTO

Las tareas asignadas son:



CADA GRUPO DE TRABAJO REPRESENTA A CADA AREA DE HEMATOLOGÍA

1) determinación de hemoglobina, hematocrito, y glóbulos rojos y blancos con los métodos en uso en cada laboratorio

2) registro de los datos obtenidos en formularios especiales para la notificación de datos

3) envío de dichos formularios al coordinador de cada área. Los resultados son analizados en función de los procedimientos analíticos y de las áreas participantes.

Los valores de referencia se establecieron por consenso general de todos los participantes después de someterse al método estadístico de truncamiento.

El análisis comparado de los resultados mostró coeficientes de variación (CV) de hematocrito (4,5%), recuento de glóbulos rojos (11,0%) y recuento de glóbulos blancos (22,2%) más altos que los coeficientes obtenidos en los diferentes áreas y lugares que se practica con los analizadores similares.

7. ACTIVIDADES.

- Reporte de resultados. _____



8. Observaciones:

9. Conclusiones:

10. Bibliografía.