

HEMATOLOGIA Estudio de la sangre y sus alteraciones.

El individuo promedio contiene aproximadamente 5 Litros de sangre (1/13 del peso corporal), de la que 3 Litros son plasma y 2 Litros células. El líquido plasmático proviene de los intestinos y órganos y constituye el vehículo para cuantificar las células. Las células son producidas principalmente en la médula ósea y corresponden a los "sólidos" de la sangre. Las células sanguíneas se clasifican en leucocitos, eritrocitos y plaquetas (trombocitos). Los leucocitos se subdividen en granulocitos, linfocitos y monocitos.

El tamaño de las células difiere: las más grandes son los leucocitos, los eritrocitos son medianos y las plaquetas son las más pequeñas. Para mayor claridad, por cada 500 eritrocitos existen aproximadamente 30 plaquetas y un solo leucocito.

El Laboratorio Clínico es una herramienta fundamental para determinar trastornos hemáticos mediante el examen de la sangre y sus componentes.

HEMOGRAMA

Conjunto de exámenes relacionados con los diferentes elementos celulares de la sangre.

PARAMETROS QUE REPORTA EL CUADRO HEMÁTICO

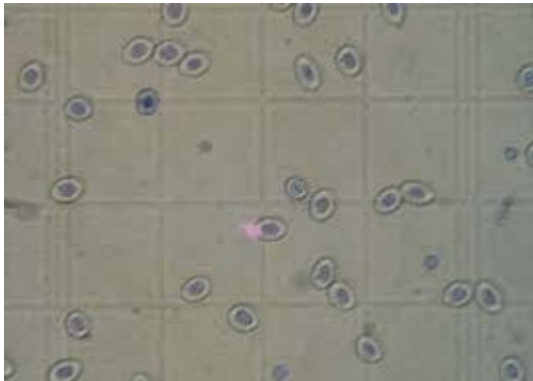
WBC:	Recuento total de leucocitos
RBC:	Recuento total de eritrocitos
HGB:	Concentración de hemoglobina
HCT:	Valor del hematocrito proporción entre el volumen de eritrocitos y el volumen total de la sangre.
MCV:	Volumen medio de eritrocitos en la sangre
MCH:	Hemoglobina media por eritrocito.
MCHC:	Concentración media de hemoglobina en los eritrocitos
PLT:	Recuento total de plaquetas
NEU %	Porcentaje de neutrofilos
LYMP%	Porcentaje de linfocitos
MONO%	Porcentaje de monocitos
EO%	Eosinofilos
BASO%	Porcentaje de basofilos
NEUT#	Recuento de neutrofilos
LIMPH #	Recuento de linfocitos
MONO#	Recuento de monocitos

EO#	Recuento de monocitos
BASO#	Recuento de basofilos
RDW-SD	Amplitud calculada de la distribución de los eritrocitos
PDW	Amplitud calculada de la distribución de plaquetas
MPV	Volumen plaquetario medio
P-LCR	Proporción de plaquetas grandes en el número total de plaquetas
PCT	Plaquetocrito

CUENTA LEUCOCITARIA (WBC)

Valores normales

Adultos: 5.000 a 10.000 / mm³



Los glóbulos blancos o leucocitos se dividen en dos grupos principales: granulocitos y agranulocitos.

Los granulocitos reciben su nombre por los gránulos que contienen en el citoplasma los neutrófilos, basófilos y eosinófilos. Sin embargo, cada una de estas células contiene un núcleo multilobulado, por lo que también se denominan leucocitos polimorfonucleares. En la terminología que se utiliza en el laboratorio, muchas veces se llaman "polis" (PMN).

Los que no son granulocitos, esto es, linfocitos y monocitos, no contienen gránulos y sus núcleos tampoco son lobulados. No son necesariamente esféricos, por lo que también se denominan leucocitos mononucleares.

Los leucocitos luchan contra la infección y defienden al organismo a través de un proceso denominado fagocitosis, en el que el glóbulo blanco encapsula a los microorganismos extraños. Además, los glóbulos blancos producen, transportan y distribuyen anticuerpos como parte de la respuesta inmunológica.

Explicación de la prueba

La cuenta leucocitaria constituye una guía muy útil sobre la gravedad de la enfermedad. En distintos tipos de padecimientos, se observan patrones específicos de la respuesta leucocitaria. La cuenta diferencial (que es el número de los distintos tipos de leucocitos) identifica a los individuos con una mayor susceptibilidad a la infección. También se realiza una prueba sobre el funcionamiento de los leucocitos para determinar la capacidad de estas células para fagocitar y destruir a las bacterias. Tanto los leucocitos como la cuenta diferencial, por sí mismos, tienen muy poca utilidad en el diagnóstico a menos que los resultados se comparen con el estado clínico del paciente; esta es la única manera de obtener una interpretación correcta y útil.

Significado clínico

La leucocitosis (cuenta leucocitaria mayor de $10\,000/\text{mm}^3$) suele deberse al aumento de un solo tipo de glóbulo blanco y recibe el nombre del tipo de célula que predomina:

Leucocitosis neutrofílica o neutrofilia.



Neutrófilos maduro

Leucocitosis linfocítica o linfocitosis.



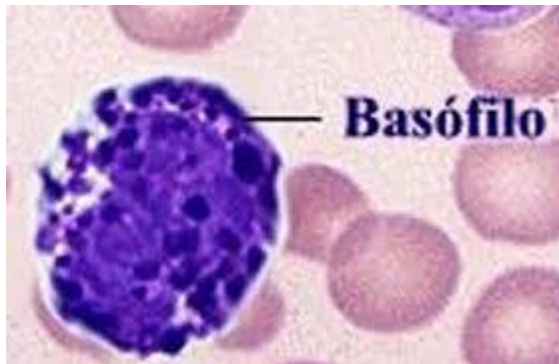
Leucocitosis eosinofílica o eosinofilia.



Leucocitosis monocítica o monocitosis.



Leucocitosis basófila o basofilia.



El aumento de leucocitos circulantes rara vez se debe a un aumento proporcional de los leucocitos de todos los tipos. Si esto sucede, suele deberse a hemoconcentración.

En algunas enfermedades (como sarampión, tos ferina y sepsis), la elevación de los leucocitos es tal que aparenta leucemia. La leucocitosis temporal (reacción leucemoide) debe distinguirse de la leucemia y en este último caso la leucocitosis es permanente y progresiva.

Se produce leucocitosis en las infecciones agudas en las que el número de leucocitos depende de la intensidad de la infección, la resistencia del paciente, su edad y la eficiencia y reserva de la médula ósea.

Otras causas de leucocitosis son:

- Leucemia.
- Traumatismo o lesión hística como en la cirugía.
- Neoplasias malignas, especialmente carcinoma broncogénico.
- Toxinas, uremia, coma, eclampsia, tormenta tiroidea y bacterias.
- Fármacos, como éter, cloroformo, quinina, adrenalina, factores estimulantes de colonias.
- Hemólisis aguda.
- Hemorragia (aguda).
- Postesplenectomía.
- Policitemia vera.
- Necrosis hística.

En ocasiones existe leucocitosis cuando no hay datos de patología clínica.

Estos datos sugieren la presencia de:

- Luz solar, radiación ultravioleta.

- Leucocitosis fisiológica por excitación, ejercicio, dolor, calor o frío, anestesia.
- Náuseas, vómitos, convulsiones.

Los esteroides modifican la respuesta leucocitaria.

- Si se administra ACTH a un individuo sano, se produce leucocitosis.
- Cuando se administra ACTH a un paciente con una infección, ésta se disemina rápidamente sin producir la leucocitosis esperada; por lo tanto, se oculta lo que podría ser un signo muy importante.
- Trastornos hematológicos; recuperación de la supresión medular, hemólisis, asplenia, trastornos mieloproliferativos.

La leucopenia (reducción de los leucocitos por debajo de $4000 \times \text{mm}^3$, se produce durante:

- Infecciones virales, algunas bacterianas muy graves.
- Hiperesplenismo.
- Depresión de médula ósea por fármacos.
- Trastornos primarios de la médula ósea.
- Enfermedades ocupativas de la médula.
- Hiperesplenismo.
- Anemia por deficiencia de hierro.

Muestra

Tome una muestra de sangre venosa, anticoagulada con EDTA, conservando siempre la relación sangre - anticoagulante.

CUENTA LEUCOCITARIA DIFERENCIAL

La cuenta leucocitaria total circulante se divide en cinco tipos de leucocitos, cada uno de los cuales tiene una función específica.

Neutrófilos Infecciones piógenas

Eosinófilos Trastornos alérgicos e infecciones parasitarias

Basófilos Infecciones parasitarias

Linfocitos Infecciones virales (sarampión, rubéola, varicela) Monocitos
Infecciones graves, mediante fagocitosis

Explicación de la prueba

La cuenta diferencial se expresa en forma de porcentaje del número total de leucocitos. Es importante tanto la distribución de los glóbulos blancos como el tipo de leucocitos y el grado con que aumentan o disminuyen.

El porcentaje es el número relativo de cada tipo de leucocito presente en la sangre. La cuenta absoluta se obtiene de manera matemática al multiplicar el valor porcentil de un tipo de leucocito por la cuenta leucocitaria total.

La cuenta diferencial aislada tiene muy poca utilidad; siempre debe interpretarse en relación con la cuenta leucocitaria total. Si el porcentaje de un tipo celular está elevado, se infiere que ese tipo de célula es relativamente más numeroso que el normal, pero no se sabe si este factor refleja una reducción absoluta de las células de otro tipo o un aumento real en el número de células que están relativamente aumentadas. Por otro lado, si se conocen las cifras relativas del percentil de la diferencial y la cuenta leucocitaria total, es posible calcular valores absolutos que no están sujetos a errores de interpretación.

Muestra

Tome una muestra de sangre venosa, anticoagulada con EDTA, conservando siempre la relación sangre - anticoagulante.

NEUTROFILOS SEGMENTADOS (POLIMORFONUCLEARES)



Valores normales

50 a 60% de la cuenta leucocitaria

Los neutrófilos, que son el tipo de leucocitos más numerosos e importantes en la reacción inflamatoria del organismo, constituyen la principal defensa contra la invasión microbiana a través del proceso llamado fagocitosis. Estas células también producen lesión hística al liberar enzimas y pirógenos endógenos.

Durante su fase inmadura del desarrollo, los neutrófilos se denominan células "banda". El término banda se origina a partir del aspecto del núcleo que no ha asumido la forma lobulada de la célula madura.

Explicación de la prueba

Esta prueba determina la presencia de neutrofilia o neutropenia. Neutrofilia es el aumento en el número absoluto de neutrófilos como respuesta a los microorganismos invasores y a las células neoplásicas. La neutropenia ocurre cuando se producen muy pocos neutrófilos en la médula ósea, se almacenan demasiados en los márgenes de los vasos sanguíneos o demasiados han debido funcionar y se han gastado.

Significado clínico

Existe neutrofilia en:

- Infecciones bacterianas agudas
- Inflamación (fiebre reumática [RA], gota aguda),
- Intoxicaciones: metabólicas
- Hemorragia aguda,

Muestra

Tome una muestra de sangre venosa, anticoagulada con EDTA, conservando siempre la relación sangre - anticoagulante.

EOSINOFILOS

Valores normales

1 a 4% de la cuenta leucocitaria total

Los eosinófilos fagocitan a los complejos antígeno-anticuerpo y se activan durante las últimas fases de la inflamación. Los eosinófilos no son bactericidas pero responden a las patologías alérgicas y parasitarias.

Explicación de la prueba

Esta prueba se utiliza para diagnosticar infecciones alérgicas, determinar la gravedad de las infestaciones con gusanos y otros parásitos grandes y vigilar la respuesta al tratamiento.

Significado clínico

La eosinofilia, que es el aumento de eosinófilos circulantes mayor de 5% se presenta en:

- Alergias, fiebre del heno, asma, reacciones medicamentosas.
- Parasitosis y triquinosis, especialmente si hay invasión de los tejidos.
- Enfermedad de Addison.
- Enfermedad de Hodgkin y linfoma, enfermedades mieloproliferativas.
- Patologías cutáneas crónicas (soriasis, pénfigo, escabiosis).
- Eosinofilia generalizada vinculada con infiltrados pulmonares.
- Algunas infecciones (escarlatina, clamidia).
- Eosinofilia familiar (rara), síndrome hipereosinofílico.
- Poliarteritis nodosa, SLE, colagenopatías, alteraciones del tejido conectivo.
- Enfermedades gastrointestinales (p. ej., colitis ulcerativa, enfermedad de Crohn).
- Inmunodeficiencias (síndrome de Wiskott-Aldrich).
- Tumores malignos, enfermedad de Hodgkin, leucemia de células T.
- Muchas reacciones medicamentosas.

La eosinopenia (reducción en la cantidad de eosinófilos circulantes) suele deberse a mayor producción de esferoides suprarrenales en las que existe tensión del organismo vinculadas con:

Síndrome de Cushing.

Uso de fármacos como ACTH, adrenalina, tiroxina, prostaglandinas.

Infecciones con neutrofilia.

Los eosinófilos desaparecen al principio de las infecciones piógenas cuando existe leucocitosis con desviación acentuada hacia la izquierda (aumento de leucocitos inmaduros).

Los mielocitos, eosinofílicos se cuentan en forma separada debido a que tienen mayor importancia, ya que sólo se observan en la leucemia o los cuadros leucemoides.

MONOCITOS (MONOMORFONUCLEARES)

Valores normales

2 a 6% de la cuenta leucocitaria total.

Estos agranulocitos, las células más grandes de la sangre normal, constituyen la segunda línea de defensa del organismo contra la infección. Los histiocitos, que son fagocitos macrófagos grandes, se clasifican como monocitos en la cuenta leucocitaria diferencial. Los histiocitos y monocitos se transforman de un tipo en otro.

Estas células fagocitarias, de distintos tamaños y movilidad, eliminan las células enfermas y muertas, microorganismos y partículas insolubles de la sangre circulante. Los monocitos que salen del aparato respiratorio y de los órganos gastrointestinales y genitourinarios realizan una función de "recolectores de basura", al limpiar el organismo de todos los restos inservibles. Estas células fagocitarias producen la sustancia anti viral Interferón.

Explicación de la prueba

En esta prueba se cuentan los monocitos que circulan en padecimientos específicos, como tuberculosis, lepra, enfermedad por almacenamiento de lípidos y endocarditis bacteriana subaguda (leucocitosis infecciosa).

Significado clínico

Existe monocitosis: elevación de los monocitos en:

- Leucemia monocítica, otras leucemias.
- Trastornos mieloproliferativos, como mieloma múltiple.

Enfermedad de Hodgkin y otros linfomas.

- Recuperación de alguna infección aguda (signo favorable).
- Enfermedades por almacenamiento de lípidos.
- Algunas infecciones parasitarias y por rickettsias.
- Infecciones bacterianas, como tuberculosis y endocarditis bacteriana subaguda.
- Colitis ulcerativa crónica, enteritis y esprue. Enfermedades del colágena y sarcoidosis.

Los monocitos fagocitarios (macrófagos) aparecen en la sangre en distintas anomalías:

- Infecciones graves.

- Lupus eritematoso.
- Anemias hemolíticas.
- Agranulocitosis.
- Púrpura trombocitopénica.

Reducción de la cuenta monocítica (no suele aparecer en enfermedades específicas).

- Tratamiento con prednisona.
- Leucemia de células vellosas.
- Artritis reumatoide.
- Infección por VIH.

LINFOCITOS (MONOMORFONUCLEARES)

Valores normales

20 a 40% de la cuenta leucocitaria total.

Estos agranulocitos son células pequeñas y móviles que emigran hacia las áreas de inflamación tanto en la fase temprana como en la tardía del proceso. Constituyen la fuente de inmunoglobulinas séricas y de la respuesta inmunológica celular y tienen gran importancia en las reacciones inmunológicas. Los linfocitos se elaboran en la médula ósea. (Los linfocitos B maduran en ese sitio; las células T en el timo.) Los linfocitos B controlan la respuesta antígeno-anticuerpo que es específica para el antígeno y se dice que tiene "memoria". Los linfocitos T, que son las principales células inmunológicas, incluyen a los linfocitos T4 cooperadores (auxiliares o ayudadores), asesinos, citóticos y células T8 supresoras.

Explicación de la prueba

En esta prueba se mide el número de linfocitos en la sangre periférica. Existe linfocitosis relativa en muchas enfermedades, pero es más acentuada en las enfermedades que cursan con neutropenia.

Significado clínico

Existe linfocitosis:

- Leucemia linfática: linfoma agudo y crónico.

- Linfocitosis infecciosa (principalmente en niños).
Mononucleosis infecciosa.
- Otras enfermedades virales: Parotiditis, Varicela, Citomegalovirus, Hepatitis infecciosa, Sarampión, Toxoplasmosis.
- Algunas infecciones bacterianas como tuberculosis, brucelosis y tóferina.
- Enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa.
- Enfermedad del suero, hipersensibilidad a medicamentos.
- Hipoadrenalismo.
- Hipotiroidismo (enfermedad de Graves).

Existe linfopenia:

- Quimioterapia, radioterapia (medicamentos inmunosupresores).
- Después de administrar ACTH y cortisona (esteroides) y tumores hipofisarios productores de corticotropina.
- Aumento de la pérdida a través del aparato gastrointestinal por obstrucción del drenaje linfático.
- Anemia aplástica
- Enfermedad de Hodgkin y otros tumores.
- Trastornos inmunológicos hereditarios, síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y disfunción inmunológica.
- Tuberculosis avanzada.
- Enfermedades debilitantes de cualquier tipo.
- Insuficiencia cardíaca congestiva.
- Insuficiencia renal.

PLAQUETAS

Las plaquetas son producidas en el proceso de formación de las células sanguíneas llamado (trombopoyesis) en la médula ósea, por fragmentación en los bordes citoplasmáticos de los megacariocitos.



Valores normales: 150 - 450 x 10⁹/litro.

Un adulto sano produce cada día alrededor de 1×10^{11} plaquetas de media.

La expectativa de vida de las plaquetas circulantes es de 7 a 10 días.

La producción de megacariocitos y plaquetas está regulada por la trombopoyetina, una hormona producida habitualmente por el hígado y los riñones.

Cada megacariocito produce entre 5.000 y 10.000 plaquetas.

Las plaquetas son destruidas por fagocitosis en el bazo y por las células de Kupffer en el hígado.

Una reserva de plaquetas es almacenada en el bazo y son liberadas cuando se necesitan por medio de contracción esplénica mediada por el sistema nervioso simpático.

Formación de trombos

La función plaquetaria consiste en el mantenimiento del corazón; Esto es alcanzado primariamente por la formación de trombos, cuando existe lesión del endotelio de los vasos sanguíneos. Por el contrario, la formación de trombos es inhibida en el caso de no existir daño en el endotelio.

Activación

La superficie interna de los vasos sanguíneos está revestida por una capa delgada de células endoteliales las cuales en circunstancias normales actúan inhibiendo la activación plaquetaria mediante la producción de monóxido de nitrógeno, ADPasa endotelial, y PGI₂; la ADPasa endotelial despeja la vía para la acción del activador plaquetario ADP.

Las células endoteliales producen una proteína llamada factor de von Willebrand (FvW), un ligando que media la adhesión celular, el cual ayuda a las células endoteliales a adherir el colágeno a la membrana basal; en condiciones

fisiológicas, el colágeno no está expuesto al flujo sanguíneo; el FvW es secretado esencialmente en el plasma por las células endoteliales, y almacenado en gránulos dentro de las células endoteliales y plaquetas.

Cuando la capa endotelial es lesionada, el colágeno, el FvW y el factor tisular del endotelio son expuestos al flujo sanguíneo.

Cuando las plaquetas hacen contacto con el colágeno o el FvW, son activadas; estas son activadas también por la trombina (formada con la ayuda del factor tisular). También pueden ser activadas por una superficie cargada negativamente, como el vidrio.

La activación plaquetaria posterior resulta en el transporte mediado por la escramblasa, de fosfolípidos cargados a la superficie plaquetaria(plaquetas); estos fosfolípidos proporcionan una superficie catalítica (con la carga provista por la fosfatidilserina y fosfatidiletanolamina) para los complejos tenasa y protrombinasa. Los iones de calcio son esenciales para la activación de los factores de coagulación.

Significado clínico

Las plaquetas activadas cambian su forma haciéndose más esféricas, y formando pseudopodos en su superficie. De esta forma toman una forma estrellada.

Secreción de gránulos

Las plaquetas contienen gránulos alfa y gránulos densos. Las plaquetas activadas excretan el contenido de estos gránulos dentro de sus sistemas canaliculares y en la sangre circundante. Existen dos tipos de gránulos:

Gránulos densos (contienen ADP o ATP, calcio, y serotonina)

Gránulos- α (contienen factor 4 plaquetario, factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF beta 1), factor de crecimiento derivado de plaquetas, fibronectina, B-tromboglobulina, FvW, fibrinógeno, y factores de coagulación factor V y XIII).

Síntesis de tromboxano A₂

La activación plaquetaria inicia la vía del ácido araquidónico para producir Tromboxano A₂; el tromboxano A₂ está involucrado en la activación de otras plaquetas y su formación es inhibida por los inhibidores de la COX, como el ácido acetilsalicílico.

Adhesión y agregación formando un coágulo.

El coágulo sanguíneo es solo una solución temporal para detener la hemorragia; la reparación del vaso debe ocurrir después. La agregación plaquetaria ayuda en este proceso mediante la secreción de sustancias químicas que promueven la invasión de fibroblastos del tejido conectivo adyacente hacia el interior de la herida para formar una costra. El coágulo

obturador es lentamente disuelto por la enzima fibrinolítica, plasmina, y las plaquetas son eliminadas por fagocitosis.

EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El recuento de plaquetas de un individuo sano se encuentra entre 150,000 y 450,000 por μl (microlitro) de sangre ($150\text{-}450 \times 10^9/\text{L}$).¹⁸ El 95 % de los individuos sanos tendrán recuentos de plaquetas dentro de este rango. Algunos tendrán recuentos de plaquetas estadísticamente anormales sin tener ninguna anomalía demostrable. Sin embargo, si el recuento es muy alto o muy bajo la probabilidad de que una anomalía este presente es más alta.

Tanto la trombocitopenia como la trombocitosis pueden manifestarse como problemas de coagulación. En general, los recuentos bajos de plaquetas incrementan el riesgo de sangrado; sin embargo existen excepciones. Por ejemplo la trombocitopenia inmune inducida por heparina. En la trombocitosis se puede producir trombosis, sin embargo esto sucede principalmente cuando el recuento elevado es debido a desordenes mieloproliferativos.

HEMATOCRITO (HCT);

Valores normales	Porcentaje
-------------------------	-------------------

ADULTOS

Mujeres	36 a 48
Varones	42 a 52

La palabra hematócrito significa "separar la sangre", lo que describe el mecanismo de la prueba, ya que el plasma y las células de la sangre se separan mediante centrifugación.

Explicación de la prueba

El hematócrito forma parte de la biometría hemática. Esta prueba determina la masa eritrocitaria. Los resultados se expresan como porcentaje de eritrocitos en un volumen de sangre completa. Constituye una medida muy importante de la anemia o policitemia.

Significado clínico

Un hematócrito bajo indica anemia, situación en la que existe reducción del hematócrito, cantidad de hemoglobina y número de eritrocitos circulantes. Un hematócrito de 30 o menos significa que el paciente tiene anemia moderada a grave. Esto también se observe en:

- a. Leucemia.
- b. Hipertiroidismo.
- c. Cirrosis.
- d. Hemorragia masiva y aguda.
- e. Reacción hemolítica —situación que se observa al transfundir sangre incompatible o como reacción a sustancias químicas o fármacos, microorganismos infecciosos o factores físicos como quemaduras o prótesis valvulares cardiacas.

El hematócrito puede o no ser confiable inmediatamente después de una hemorragia moderada e inmediatamente después de las transfusiones o no. Sin embargo, constituye un buen indicador de la cantidad de sangre que se haya perdido hasta el momento en que se obtiene la muestra.

El hematócrito llega a ser normal después de una hemorragia aguda. Durante la fase de recuperación, el HCT y la cuenta eritrocitaria disminuyen en forma acentuada.

Generalmente, el HCT es paralelo a la cuenta eritrocitaria cuando las células son de tamaño normal. Al aumentar el número de eritrocitos de tamaño normal, también se eleva el hematócrito.

No obstante, para el paciente con una anemia microcítica o macrocítica, esta relación no es igual.

b. Si un paciente cursa con anemia por deficiencia de hierro con eritrocitos pequeños, el HCT disminuye debido a que las células microcíticas forman un paquete más pequeño. Sin embargo, la cuenta eritrocitaria es normal.

El hematócrito se eleva en la policitemia, que es el aumento en el número de eritrocitos basada en la HCT y el valor de la hemoglobina, y además en:

Eritrocitosis.

Deshidratación intensa.

Choque, cuando existe hemoconcentración importante.

Las personas que habitan en grandes altitudes tienen un HCT alto, al igual que Hb y cuenta leucocitaria.

Normalmente, el valor disminuye ligeramente en la hidremia fisiológica del embarazo.

Los valores normales del HCT varían con la edad y el sexo. En el lactante, el valor es mayor debido a que el recién nacido tiene muchos eritrocitos macrocíticos. En la mujer, el hematócrito suele ser ligeramente menor que en el varón.

El hematócrito también tiende a ser menor después de los 60 años, lo que corresponde también a una cuenta eritrocitaria inferior en este grupo de edad.

El hematócrito <20.0% produce insuficiencia cardiaca y muerte; el hematócrito >60% provoca coagulación sanguínea espontánea.

HEMOGLOBINA (Hb)

Valores normales

Mujeres	12 a 16 g/dl
Varones	14 a 17 g/dl

La hemoglobina, principal componente de los eritrocitos, sirve como vehículo para el oxígeno y dióxido de carbono. Está formada por aminoácidos que constituyen una sola proteína llamada globina y un compuesto llamado hem, que contiene átomos de hierro y el pigmento rojo porfirina. El pigmento hierro es la porción de la hemoglobina que se combina fácilmente con el oxígeno y concede a la sangre su color rojo característico. Cada gramo de hemoglobina transporta 1.34 ml de oxígeno. La capacidad de la sangre para combinarse con el oxígeno es directamente proporcional a la concentración de hemoglobina, y no al número de eritrocitos, debido a que algunos glóbulos rojos contienen más hemoglobina que otros. Esta es la razón por la que es importante determinar la hemoglobina al estudiar la anemia.

La hemoglobina también sirve como amortiguador importante del líquido extracelular. En los tejidos, la concentración de oxígeno es menor y la de dióxido de carbono y iones hidrógeno es mayor. Si el pH es más bajo, se disocia más oxígeno de la hemoglobina. La hemoglobina no oxigenada se adhiere a los iones hidrógeno, y eleva el pH. Conforme el dióxido de carbono se difunde hacia los glóbulos rojos, la anhidrasa carbónica convierte al dióxido de carbono en bicarbonato y protones. Los protones se unen a la hemoglobina y los iones bicarbonato abandonan la célula. Por cada ion bicarbonato que abandona la célula, penetra un ion de cloro. La eficiencia de este sistema amortiguador depende de la capacidad para eliminar dióxido de carbono o bicarbonato a través de los pulmones y riñones, respectivamente.

Explicación de la prueba

La medición de la hemoglobina forma parte de la biometría hemática. Sirve para detectar enfermedades que se acompañan de anemia, ayuda a determinar la intensidad de la anemia, a vigilar la respuesta al tratamiento y a valorar la policitemia.

Significado clínico

Se observa hemoglobina baja en la anemia (situación en la que existe reducción de la hemoglobina, hematócrito y cuenta eritrocitaria). Es difícil afirmar de manera explícita cuál es el nivel de la hemoglobina que representa la presencia de anemia por la gran cantidad de adaptación y eficiencia que tiene el organismo para responder a las distintas concentraciones de hemoglobina en la sangre. Esta cifra debe valorarse junto con la cuenta eritrocitaria y el hematócrito.

- Hipertiroidismo.
- Cirrosis hepática.
- Hemorragia abundante.
- Reacciones hemolíticas causadas por:
 - Transfusión de sangre incompatible.
 - Reacción a sustancias químicas y fármacos.
 - Reacción a microorganismos infecciosos.
 - Reacción a factores físicos (quemaduras intensas o prótesis valvulares cardiacas).
- Diversas enfermedades generales: Carcinomatosis, Sarcoidosis, Leucemia, Necrosis renal cortical, Linfoma, Lupus eritematoso

La hemoglobina aumenta cuando hay hemoconcentración (cualquier situación como policitemia y quemaduras intensas en las que aumenta el número de eritrocitos circulantes por arriba de lo normal).

- a. Neumopatía obstructiva crónica.
- b. Insuficiencia cardiaca congestiva.
- c. Policitemia vera.

3. Variaciones en la cifra de hemoglobina.

- a. Esto sucede después de transfusiones, hemorragias, quemaduras (la Hb y el HCT son elevados durante la hemorragia e inmediatamente después).
- b. La hemoglobina y el HCT proporcionan información muy útil en casos de urgencia si se interpretan en conjunción con otros datos de laboratorio. Tenga

en mente que existen muy pocas pruebas de laboratorio en medicina que puedan considerarse como diagnósticas por sí mismas.

4. Las personas que habitan en altitudes elevadas tienen cifras mayores, como sucede con el hematócrito.

5. La ingestión excesiva de líquidos provoca que la cifra baje.

6. Normalmente, la cifra es mayor en lactantes antes de que se inicie la eritropoyesis activa.

7. La hemoglobina suele disminuir en el embarazo.

8. Los fármacos que aumentan la hemoglobina son la gentamicina y la metildopa.

9. Existen muchos fármacos que reducen la cifra de hemoglobina.

La cifra preocupante de hemoglobina es <5.0 g/dl, ya que provoca insuficiencia cardíaca y muerte. Una cifra mayor de 20 g/dl provoca coagulación capilar por hemoconcentración.

Muestra

Tome una muestra de sangre venosa, anticoagulada con EDTA, conservando siempre la relación sangre – anticoagulante.

3.1.6. ÍNDICES ERITROCITARIOS

Estos índices definen el tamaño y el contenido de hemoglobina de los glóbulos rojos y constan del volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM) y concentración media de hemoglobina corpuscular (CCMH).

Explicación de las pruebas

Los índices eritrocitarios se utilizan para diferenciar a las anemias. Si se utilizan en conjunto al examinarse los glóbulos rojos en el frotis, es posible obtener un cuadro muy claro de la morfología de los glóbulos rojos. Con base en los índices eritrocitarios, los eritrocitos se clasifican en normales o anormales en cuanto a volumen o contenido de hemoglobina. En las deficiencias, las anemias se clasifican, según el tamaño de los glóbulos rojos, en macrocíticas,

normocíticas, microcíticas simples o según el tamaño de la célula y el color en microcítica hipocrómica.

3.1.6.1 VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO (VCM)

Valores normales

80 a 97 femtolitros (fl) o u.m^3 (los valores son mayores en lactantes y recién nacidos).

Explicación de la prueba:

El mejor índice para clasificar las anemias es el tamaño de cada célula. Este índice expresa el volumen que ocupa un solo eritrocito y se mide en micras cúbicas (um^3) del volumen medio. El volumen corpuscular medio indica si el tamaño del glóbulo rojo es normal (normocítica), menor (microcítica) o mayor (macrocítica). Si el VCM es menor de 87 um^3 , los eritrocitos son microcíticos; si el VCM es mayor de 103 u.m^3 , los glóbulos rojos son macrocíticos; si el VCM se encuentra dentro de estos límites, los glóbulos rojos son normocíticos.

Significado clínico

Los resultados del VCM constituyen la base para clasificar una anemia. Las clasificaciones siguientes son útiles para una investigación ordenada:

1. ANEMIAS CARACTERIZADAS POR DEFICIENCIA EN LA SÍNTESIS DE HEMOGLOBINA

A-Eritrocitos hipocrómicos (VCM 50 a 82 fl)

a - ALTERACIONES EN EL METABOLISMO DEL HIERRO

Anemia por deficiencia de hierro: es la causa más frecuente de anemia en el mundo. Las causas principales de deficiencia de hierro son dieta insuficiente, malabsorción, aumento en la pérdida de hierro y aumento en las necesidades de hierro. Anemia de enfermedades crónicas, atransferrinemia hereditaria
Anemia microcítica hipocrómica congénita con sobrecarga de hierro (síndrome de Shahidi-Nathan-Diamond)

b -ALTERACIONES EN LA SÍNTESIS DE PORFIRINA Y GRUPO HEM

Anemias sideroblásticas adquiridas

Anemia sideroblástica refractaria idiopática, como complicación de otras enfermedades vinculadas con fármacos o toxinas (etanol, INH, plomo) Anemias sideroblásticas hereditarias Autosómica ligada al sexo

c - ALTERACIONES EN LA SÍNTESIS DE LA GLOBINA

Talasemias, hemoglobinopatías caracterizadas por hemoglobinas inestables

B- Anemias normocíticas normocrómicas (MCV 82 a 98 μm^3 o fl)

a- ANEMIA CON RESPUESTA ADECUADA DE LA MEDULA OSEA

Anemia poshemorrágica aguda Anemia hemolítica (es macrocítica cuando existe reticulocitosis pronunciada)

2 –ANEMIAS CARACTERIZADAS POR DEFICIENCIA EN LA SÍNTESIS DE HEMOGLOBINA.

A - ANEMIA CON DETERIORO DE LA RESPUESTA DE LA MEDULA OSEA

Hipoplasia medular Anemia aplásica, aplasia pura de glóbulos rojos

Infiltración medular

Infiltración por células cancerosas, mielofibrosis, enfermedades hereditarias del almacenamiento

Reducción en la producción de eritropoyetina

Nefropatías y hepatopatías, deficiencias endocrinas, desnutrición, anemia de enfermedades crónicas

B – ANEMIAS MACROCITAS (VCM 100 a 160 μm^3 o fl)

a- DEFICIENCIA DE COBALAMINA

Ingestión insuficiente Ausencia en la dieta de productos animales, vegetarianos estrictos

Absorción insuficiente

Deficiencia de factor intrínseco, anemia perniciosa, gastrectomía (total y parcial), destrucción de la mucosa gástrica por cáusticos, anticuerpos anti-IF en el jugo gástrico, molécula anormal del factor intrínseco, enfermedad intestinal intrínseca, malabsorción selectiva familiar (síndrome de Imerslund), resección de íleon, ileítis, esprue, enfermedad celiaca, enfermedad intestinal infiltrativa (linfoma, escleroderma), mala absorción inducida por fármacos

Parásitos competitivos

Infestación con solitaria de pescado (*Diphyllobothrium latum*); bacterias en los divertículos intestinales, asas ciegas

Aumento de los requerimientos

Pancreatitis crónica, embarazo, cáncer, hipertiroidismo

Alteraciones en la utilización

Deficiencias enzimáticas, proteína captadora de cobalamina sérica anormal, falta de transcobalamina II, administración de óxido nítrico

b- DEFICIENCIA DE FOLATO

Ingestión reducida Ausencia de vegetales, alcoholismo, lactancia

Alteraciones en la absorción

Cortocircuitos intestinales, esteatorrea, esprue, enfermedad celiaca, enfermedad intestinal intrínseca, anticonvulsivos, anticonceptivos orales y otros fármacos

Aumento de los requerimientos

Embarazo, lactancia, hipertiroidismo, hematopoyesis hiperactiva, cáncer, patología cutánea exfoliativa

Alteraciones en la utilización

Antagonistas del ácido fólico: metotrexato, triamtereno, trimetoprim, deficiencias enzimáticas

Hemodiálisis

3.1.6.2 CONCENTRACIÓN MEDIA DE HEMOGLOBINA CORPUSCULAR (CCMH)

Valores normales

31 a 35 g/dl.

Explicación de la prueba

En esta prueba se mide la concentración promedio de hemoglobina en los glóbulos rojos. La CCMH es muy útil para vigilar el tratamiento de la anemia debido a que las determinaciones hematológicas más precisas (hemoglobina y hematócrito) son las que se utilizan para calcular esa prueba.

Significado clínico

1. La CCMH reducida significa que una unidad de volumen de glóbulos rojos contiene menos hemoglobina que lo normal:

- a. Deficiencia de hierro.
- b. Anemias macrocíticas, hemorragias
- c. Anemia que responde a la piridoxina.
- d. Talasemia.

2. La anemia hipocrómica se caracteriza por una CCMH de 30 o menos.

3. La CCMH elevada suele indicar esferocitosis; los glóbulos rojos no contienen más de 37 g/100 ml de hemoglobina, lo que sucede también en los recién nacidos y lactantes.

4. La CCMH muestra una elevación falsa en presencia de lipemia, aglutininas frías o fenómeno de fila de monedas o con concentraciones altas de heparina.

5. Independientemente de los cálculos, es imposible que existan cifras mayores de CCMH de 37 g/100 ml.

Procedimiento y Fundamento

La Muestra obtenida es procesada en el ADVIA 2120 es una cifra que calcula con la expresión de la concentración promedio de hemoglobina en los glóbulos rojos y, como tal, nos proporciona la relación entre el peso de la hemoglobina y el volumen de eritrocitos.

Fórmula:

$$\frac{\text{Hb(g/100ml)} \times 100}{\text{HCT (\%)}} = \text{g/100 ml}$$

Muestra

Tome una muestra de sangre venosa, anticoagulada con EDTA, conservando siempre la relación sangre – anticoagulante.

3.1.6.3 HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MEDIA (HCM)

Valores normales

26 a 34 picogramos (pg)/células (normalmente los valores más elevados se encuentran en recién nacidos y lactantes).

Explicación de la prueba

La cuantificación de la HCM es el promedio del peso de la hemoglobina por glóbulo rojo. Este índice es muy importante en el diagnóstico de pacientes con anemias graves.

Significado clínico

1. La HCM elevada acompaña a la anemia macrocítica.
2. La HCM reducida acompaña a la anemia microcítica.
3. La hiperlipidemia eleva en forma falsa la hemoglobina corpuscular media.
4. La cuenta leucocitaria mayor de 50 000/mm³ eleva en forma artificial el valor de la hemoglobina, que a su vez eleva en forma artificial la hemoglobina corpuscular media.

5. Las altas concentraciones de heparina elevan en forma artificial la hemoglobina corpuscular media.

Procedimiento y Fundamento

La Muestra obtenida es procesada en el ADVIA 60 la HCM es un valor calculado. Es una expresión del peso promedio de la hemoglobina en los eritrocitos. La MCH se expresa en picogramos de hemoglobina por eritrocito.

Fórmula:

$$\text{HCM} = \frac{\text{Hemoglobina}/100 \text{ ml} \times 10}{\text{RBC}(10 \text{ /L})} = \text{pg} (10 \text{ /L})$$

Muestra

Tome una muestra de sangre venosa, anticoagulada con EDTA, conservando siempre la relación sangre – anticoagulante.

3.1.6.4 . ANCHO DE BANDA DE LOS ERITROCITOS (IDE)

Valores normales

10 a 15 %.

Explicación de la prueba

El ancho de banda de los eritrocitos (red cell size distribution width, IDE) es una prueba automatizada útil para investigar algunas alteraciones hematológicas y vigilar la respuesta al tratamiento; es básicamente indicación del grado de anisocitosis (variación anormal en el tamaño de los glóbulos rojos). Los eritrocitos normales tienen un grado discreto de variación.

Significado clínico

1. Ocurren cambios en el coeficiente de variación (CV) en:

- a. Anemia perniciosa (CV = 12.9%).
- b. Anemia posmenorrágica (CV = 9.9%).
- c. Es útil para distinguir a la talasemia heterocigótica no complicada (VCM bajo, IDE normal) de la deficiencia de hierro (VCM bajo, IDE alto).
- d. Es útil para distinguir a la anemia de las enfermedades crónicas, con un VCM normal bajo (IDE normal), de la anemia por deficiencia de hierro (VCM normal bajo, IDE elevado).

2. Ocurre aumento de IDE en:

- a. Deficiencia de hierro.
- b. Deficiencia de vitamina B12 o folato.
- c. Hemoglobina anormal.
- d. Talasemia.

e. Anemia hemolítica inmunológica.

4. RECUENTO DE RETICULOCITOS

Valores normales

Adultos: 0.5 a 1.5% de eritrocitos totales.

El reticulocito es un eritrocito joven, inmaduro y sin núcleo que contiene material reticular (RNA) que se tiñe de color gris-azulado. Este retículo se observa en las células nuevas durante uno o dos días antes de que la célula alcance su madurez completa. Normalmente, se observa un pequeño número de estas células en la sangre circulante. Para que la cuenta de reticulocitos sea importante, debe compararse con la cuenta total de eritrocitos.

Explicación de la prueba

La cuenta de reticulocitos se utiliza para distinguir las anemias producidas por insuficiencia de la médula ósea de las que son causadas por hemorragia o hemolisis (destrucción de eritrocitos); para vigilar lo efectivo del tratamiento de la anemia perniciosa o la recuperación de la función de la médula ósea en la anemia aplásica, y para determinar los efectos de las sustancias radiactivas en los individuos expuestos a este factor.

Significado clínico

1. La cuenta reticulocítica aumentada (reticulocitosis) indica que existe mayor producción de glóbulos rojos conforme la médula ósea sustituye a las células que se pierden o se destruyen en forma precoz. Si se identifica reticulocitosis, puede haber alguna enfermedad oculta como hemorragia crónica o hemolisis (anemia de células falciformes y talasemia). Existe reticulocitosis en:
 2.
 - a. Anemia hemolítica.
 - (1) Inmunológica.
 - (2) Problemas primarios de la membrana eritrocitaria.
 - (3) Hemoglobinopatía y anemia de células falciformes.
 - (4) Deficiencia de las enzimas eritrocitarias.
 - (5) Contacto con toxinas.
 - (6) Traumática o microorganiopática.
 - (7) Hiperesplenismo.
 - (8) Parasitosis.
 - b. Tres a cuatro días después de una hemorragia.

c. Después del tratamiento de la anemia.

- (1) La reticulocitosis se utiliza como índice de la efectividad del tratamiento.
- (2) Después de administrar una dosis adecuada de hierro en una anemia por deficiencia de hierro, la elevación de los reticulocitos es mayor de 20 por ciento.
- (3) Se produce una elevación proporcional cuando la anemia perniciosa es tratada mediante una transfusión o con vitamina B12.

2. La cuenta reticulocítica baja significa que la médula ósea no produce suficientes eritrocitos y ocurre en:

- a. Anemia por deficiencia de hierro.
- b. Anemia aplásica
- c. Anemia perniciosa no tratada.
- d. Infección crónica.
- e. Radioterapia.
- f. Endocrinopatías.
- g. Tumor en médula ósea
- h. Síndromes mielodisplásicos.

3. El paciente que ha sido transfundido recientemente tiene una cuenta inferior por dilución.

Procedimiento y Fundamento

La muestra de sangre se mezcla con un colorante supravital, como azul de cresil brillante (ver anexo 2). Una vez que se permite que el colorante reaccione con la sangre, se prepara un frotis con esta mezcla y se visualiza bajo el microscopio. Se cuentan los reticulocitos presentes en 10 campos donde los eritrocitos no estén apilados (aproximadamente 1000 eritrocitos) y se calcula el resultado en porcentaje dividiendo por 10.

Muestra

Tome una muestra de sangre venosa, anticoagulada con EDTA, conservando siempre la relación sangre – anticoagulante.

4.1 COLORACION DE RETICULOCITOS

- En un tubo de ensayo añadir 3 gotas de sangre y 3 gotas de colorante. Azul de cresil brillante.
- Agitar suavemente.
- Incubar 15 minutos a 37° C.
- Sacar una gota y realizar un extendido.
- Secar al aire.
- Leer en objetivo de 100 x.
- Contar el número de reticulocitos en 1000 eritrocitos.

- Calcular el porcentaje de reticulocitos así:

$$\frac{\text{No de Reticulocitos}}{\text{No de Eritrocitos}} \times 100$$

5. VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN GLOBULAR (VSG)

Valores normales

Método Wintrobe

Varones 0 a 10 mm/h

Mujeres 0 a 20 mm/h

Se produce sedimentación cuando los eritrocitos se aglomeran en forma de columnas (formación en pila de monedas). Estos cambios se deben a alteraciones en las proteínas plasmáticas.

Explicación de la prueba

La velocidad de sedimentación globular (VSG) es aquella con la que los eritrocitos se sedimentan en la sangre anticoagulada en una hora.

Esta prueba se basa en el hecho de que los procesos inflamatorios y necróticos alteran las proteínas sanguíneas, con lo que los eritrocitos se aglomeran, se tornan más pesados y es más probable que caigan rápidamente si se colocan en tubo de ensayo vertical. Entre más rápida es la velocidad de sedimentación, mayor será la VSG.

La VSG no se debe utilizar en pacientes asintomáticos para buscar enfermedades. Es útil para el diagnóstico y la vigilancia de artritis temporal y polimialgia reumática. La velocidad de sedimentación globular no es diagnóstica de ninguna enfermedad en especial, sino que indica que existe alguna patología que debe ser investigada.

Significado clínico

1. La velocidad de sedimentación se encuentra elevada en:

- Todas las enfermedades del colágeno.
- Toxemia.
- Macroglobulinemia de Waldenström
- Infecciones, neumonía, sífilis.
- Enfermedades inflamatorias,
- Nefritis, nefrosis.
- Carcinoma, linfoma

- h. Endocarditis bacteriana
- i. Intoxicación aguda por metales pesados
- j. Anemia.
- k. Artritis reumatoide, gota,
- l. Destrucción de células o tejidos.

2. La sedimentación globular es normal en:

- a. Policitemia vera, eritrocitosis.
- b. Anemia de células falciformes.
- c. Insuficiencia cardiaca congestiva.
- d. Hipofibrinogenemia (por cualquier causa).
- e. Deficiencia de cinasa de piruvato.
- e. Esferocitosis hereditaria.

3. La sedimentación globular es normal o variable en:

- a. Enfermedades agudas: la velocidad de sedimentación cambia entre 6 y 24 h después de que se eleva la temperatura y existe leucocitosis, y alcanza su máximo valor días después.
- b. Convalecencia: el aumento de la sedimentación tiende a persistir durante más tiempo que la hipertermia o la leucocitosis.
- c. Apendicitis aguda no perforada (primeras etapas): incluso si es supurativa o gangrenosa, la velocidad de sedimentación es normal, pero si existe absceso o peritonitis, la velocidad de sedimentación aumenta rápidamente.
- d. Trastornos musculoesqueléticos.
 - (1) En artritis reumatoide, gonorreica y gotosa la velocidad de sedimentación aumenta sobremanera.
 - (2) En osteoartritis, la velocidad de sedimentación aumenta ligeramente.
 - (3) En la neuritis, miositis y lumbalgia, la velocidad de sedimentación se encuentra dentro de límites normales.
- e. Problemas cardiovasculares.
 - (1) En el infarto del miocardio, la VSGR aumenta.
 - (2) En la angina de pecho, la VSGR no aumenta.
- f. Cáncer.
 - (1) En mieloma múltiple, linfoma o cáncer metastático, la velocidad de sedimentación es muy elevada.

Sin embargo, existe poca correlación entre el grado de aumento de la VSG y el pronóstico en cualquier caso.

- g. Infecciones virales no complicadas y mononucleosis infecciosa.
- h. Insuficiencia renal activa con insuficiencia cardiaca.
- i. Alergia activa.

j. Úlcera péptica.

La velocidad de sedimentación globular aumenta exageradamente en el linfocarcinoma maligno de colon y mama, mieloma y artritis reumatoide.

4. En la sangre refrigerada, la sedimentación aumenta. Si se utiliza sangre refrigerada, se debe dejar a temperatura ambiental antes de iniciar el examen.

5. Dosis elevadas de aspirina.

Procedimiento y Fundamento

La muestra bien homogenizada se succiona con una cánula conectada a una jeringa y se llena el tubo de sedimentación de wintrobe introduciendo la cánula hasta el fondo y llenando hasta la marca del 0 teniendo cuidado de que no se formen burbujas de aire se deja que repose exactamente durante 1 hora, durante este tiempo las células se sedimentan formándose un paquete de eritrocitos en el fondo del tubo, pasada 1 hora se registra el número de mm que han descendido los eritrocitos.

Muestra

Tome una muestra de sangre venosa, anticoagulada con EDTA, conservando siempre la relación sangre – anticoagulante.

6. PRUEBAS DE COAGULACION

6.1 TIEMPO DE PROTROMBINA (PT)

Valores normales

12 a 14 segundos.

Verifique estos valores con el inserto, pueden variar dependiendo de la casa comercial y la técnica.

La protrombina es una proteína producida por el hígado que actúa en la coagulación sanguínea. La producción de esta proteína depende de la ingestión suficiente de vitamina K y de su absorción. Durante el proceso de la coagulación, la protrombina se convierte en trombina. En los pacientes con problemas hepáticos, el contenido sanguíneo de protrombina disminuye.

Explicación de la prueba

El tiempo de protrombina es una de las cuatro pruebas más importantes para el diagnóstico de trastornos de la coagulación. Mide directamente un defecto de

potencial en la segunda fase del mecanismo de la coagulación y analiza la capacidad de cinco factores de la coagulación (protrombina, fibrinógeno y factores V, VII y X). Esto se conoce como el "tiempo de protrombina" y suele ordenarse durante el tratamiento con anticoagulantes (warfarina; Coumadin). Los anticoagulantes orales (warfarina, Coumadin y dicumarol) se suelen prescribir como tratamiento de los coágulos sanguíneos. Estos son anticoagulantes indirectos (a diferencia de la heparina que es un anticoagulante directo). Sin embargo, si es necesario, la heparina

Constituye la elección inicial del tratamiento debido a que actúa con rapidez y lisa el coágulo de manera parcial.

1. Esos fármacos actúan a través del hígado y retrasan la coagulación al interferir con la acción de los factores vinculados a la vitamina K (II, VII, IX y X) que aceleran la coagulación.
2. Los anticoagulantes orales retrasan la formación de vitamina K y provocan elevación del tiempo de protrombina al reducir los factores II, VII, IX y X.
3. La técnica habitual es realizar un PT diario. Una vez que se determina el PT, se ajusta la dosis del anticoagulante hasta obtener la dosis terapéutica. Posteriormente, se realizan PT cada semana o cada mes mientras dure el tratamiento.
4. La warfarina (Coumadin) tarda de 48 a 72 h en producir cambios cuantificables del tiempo de protrombina.

El plasma debe de 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.

TECNICA: Incubar el plasma y simplista a 37°: a 0.2 ml de simplastin agregar 0.1 ml de plasma y cronometrar, hasta la formación de hilos de fibrina.

REPORTE DEL RESULTADO COMO UN INDICE: Debido a la variabilidad de la tromboplastina y de los instrumentos es imposible comparar los resultados del tiempo de protrombina, de un laboratorio a otro, cuando se utiliza el reporte en segundos o en razón. Para evitar este problema la Organización Mundial de la Salud (OMS), estableció el INR el cual se obtiene utilizando el índice de

sensibilidad internacional conocido como ISI el cual es asignado a cada lote de reactivos de acuerdo con el patrón internacional.

$$\text{INR} = \frac{(\text{TIEMPO DE PROTROMBINA DEL PACIENTE}) \text{ ISI}}{(\text{TIEMPO DE PROTROMBINA DEL CONTROL})}$$

Un valor no coagulante mayor de 20 segundos en personas sin anticoagulación es crítico, y en personas anticoaguladas un valor por encima de tres veces el valor de referencia.

Farmacoterapia y protocolos de PT

1. Los pacientes con problemas cardiacos suelen mantenerse a un PT de 2 a 2.5 veces el normal (basal).
2. Si se utiliza el INR, el control es más sensible.
3. Para el tratamiento de los coágulos sanguíneos, el PT debe mantenerse de 2 a 2.5 veces mayor que el normal. Si el PT disminuye por debajo de este límite, el tratamiento no es efectivo y se extienden los coágulos o bien se forman nuevos coágulos. Por el contrario, si el PT se eleva por arriba de 30 s, existe el riesgo de hemorragia.

INR = Relación Normalizada Internacional

INR = P/C X ISI

P/C = Relación del tiempo de protrombina: el PT del paciente se divide entre el valor normal promedio del PT en el laboratorio.

ISI = índice de Sensibilidad Internacional: comparación de la tromboplastina (proporcionada por el fabricante del reactivo).

Significado clínico

1. El PT aumenta en:
 - a. Deficiencia de protrombina (factor II) y de factores V, VII y X
 - b. Deficiencia de vitamina K.
 - c. Hemorragia del recién nacido.
 - a. Hepatopatía (p. ej., hepatitis alcohólica).
 - b. Tratamiento con anticoagulantes por fuera de la dosis terapéutica.
 - c. Obstrucción biliar.
 - d. Intoxicación con salicilatos.
 - e. Hipervitaminosis A.
 - f. Coagulación intravascular diseminada (DIC).

- g. Síndrome de Zollinger-Ellison.
- h. Hipofibrinogenemia (deficiencia del factor I).
- i. Lupus eritematoso generalizado (SLE).
- 2. El PT disminuye en:
 - a. Hiperfunción ovárica.
 - b. Enteritis/ileítis regional.

1. Las situaciones que no alteran el PT son:

- a. Policitemia vera.
- b. Enfermedad de Tannin.
- c. Enfermedad de Christmas (deficiencia de fact IX).
- d. Hemofilia A
- e. Deficiencia de von Willebrand
- f. Alteraciones plaquetarias: púrpura trombocitopénica idiopática (ITP)
Interferencias

- 1. Dieta: ingestión excesiva de vegetales verdes y con hojas (aumenta la absorción de vitamina K, que acelera la coagulación sanguínea).
- 2. El alcoholismo y la ingestión excesiva de alcohol elevan el tiempo de protrombina.
- 3. La diarrea y el vómito reducen el PT por deshidratación.
- 4. Calidad de la punción venosa: el PT se acorta si la técnica es relativamente traumática.
- 5. Influencia de los medicamentos prescritos (la isoniazida [INH], feno-tiazidas, cefalosporinas, colestiramina, fenilbutazona, metronidazol, hipo-glucemiantes orales, fenitoína).

Fundamento

La prueba se basa en lograr una concentración óptima de iones calcio y un exceso de tromboplastina, siendo la única variable la concentración de protrombina y los factores accesorios en un volumen de plasma cuidadosamente medido.

6.2 TIEMPO PARCIAL DE TROMBOPLASTINA ACTIVADA (APTT)

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. El PTT mide la integridad de la vía intrínseca de la coagulación, encontrándose alargado también en coagulación intravascular diseminada,

disfibrinogenemias, afibrinogrenemia, hepatopatías severas, deficiencia de vitamina K, también es utilizado en control de la anticoagulación con heparina.

Valores normales

22 a 30 s.

Verifique estos valores con el inserto, pueden variar dependiendo de la casa comercial y la técnica.

El APTT, prueba de coagulación de una sola fase, ayuda a detectar trastornos de la coagulación. Específicamente, detecta deficiencias del sistema intrínseco de la tromboplastina y también revela defectos en el mecanismo extrínseco de la coagulación.

Un valor es considerado crítico cuando el resultado es mayor de 70 segundos. El PTT reemplaza el tiempo de coagulación que en la actualidad no tiene ninguna utilidad clínica.

Significado de los resultados anormales

El aumento en los tiempos TP pueden ser indicio de:

Obstrucción del conducto biliar

Cirrosis

Coagulación intravascular diseminada

Hepatitis

Malabsorción (absorción inadecuada de nutrientes desde el tracto intestinal)

- Deficiencia de vitamina K
- Terapia con cumadina (warfarina)
- Deficiencia del factor VII
- Deficiencia del factor X
- Deficiencia del factor II (protrombina)
- Deficiencia del factor V
- Deficiencia del factor I (fibrinógeno)

Explicación de la prueba

El APTT es la prueba de elección para vigilar el tratamiento con heparina. También ayuda a detectar anticoagulantes circulantes.

Significado clínico

1. El APTT se prolonga en:

- a. Todas las deficiencias congénitas del sistema intrínseco de la coagulación, incluso la hemofilia A y hemofilia B.
- b. Deficiencia congénita del factor de Fitzgerald y factor de Fletcher .
- c. Tratamiento con heparina y warfarina (Coumadin).
- d. Deficiencia de vitamina K.
- e. Hipofibrinogenemia y hepatopatía.
- f. Coagulación intravascular diseminada (DIC) crónica o aguda.
- g. Productos de degradación de la fibrina (FBP).

2. El APTT y PT detectan aproximadamente 95% de las anomalías de la coagulación. Cuando se realiza el APTT simultáneamente con PT, se esclarecen todavía más los defectos de la coagulación. Por ejemplo, un PT normal con un PTT anormal significa que el defecto se encuentra dentro de la primera fase de la cascada de la coagulación (factores VIII, IX, X, XI y/o XII). Un APTT normal y PT anormal sugiere una posible deficiencia de factor VII. El patrón de PT y APTT prolongados sugiere deficiencia de los factores I, II, V o X.

3. El APTT se acorta en:

- a. Cáncer extenso, excepto cuando está afectado el hígado.
- b. Inmediatamente después de una hemorragia aguda.
- c. Las primeras fases de la coagulación intravascular diseminada

4. Los anticoagulantes circulantes (inhibidores) suelen ser inhibidores de un factor específico (factor VIII). Estos son más frecuentes en el desarrollo de antifactor VIII o antifactor IX del 5 a 10% de los pacientes hemofílicos. Los anticoagulantes que aparecen en el hemofílico tratado se detectan mediante un APTT prolongado.

El APTT >100 seg significa hemorragia espontánea.

1. Tratamiento con heparina: la heparina es un anticoagulante directo.
 - a. En la sangre, la heparina se combina con una globulina alfa cofactor de la heparina) para formar una antitrombina muy potente.
 - b. Debido a que la vida media de la heparina es de 3 h, el APTT se mide 3 h después de la administración de este medicamento.

- c. Las cifras terapéuticas de APTT suelen mantenerse al doble o dos veces y media de los valores normales.

Fundamento

En la sangre el Calcio es enlazado por el anticoagulante, lo que impide la coagulación. Después de la centrifugación del plasma este contiene todos los factores intrínsecos de la coagulación, excepto el calcio y plaquetas. Se añade al plasma un sustituto fosfolípido de las plaquetas, y calcio; el resultado del tiempo de tromboplastina parcial activado es el tiempo que tarda en coagular dicho plasma.

7. HEMOCLASIFICACION

7.1 .GRUPOS SANGUÍNEOS; GRUPOS ABO

La sangre del ser humano se clasifica de acuerdo con la presencia o ausencia de antígenos específicos de grupo (ABO). Estos antígenos se localizan en la superficie de los eritrocitos y pueden inducir la producción de anticuerpos en el organismo.

(Se conocen más de 300 antígenos diferentes.) La base para las demás pruebas que se realizan antes de una transfusión es la compatibilidad del grupo ABO

Explicación de la prueba

Todo donador y receptor potencial de sangre debe someterse a una prueba para establecer su tipo sanguíneo y de esta manera evitar la transfusión de sangre incompatible.

Las actividades antigénicas están determinadas por algunos azúcares que tienen un acoplamiento especial denominado A y B. La N-acetilgalactosamina es el que proporciona la actividad de la molécula A; mientras que la galactosa es la que determina la actividad de B. La actividad antigénica de la molécula central (sin galactosa ni N-acetilgalactosamina) se denomina H. Esta sustancia H, y la actividad de los genes H, es indispensable para el funcionamiento de los antígenos ABO. El cuadro a continuación enumera los grupos sanguíneos y sus antígenos ABO:

Antígeno	Anticuerpos	Grupo sanguíneo eritrocitario
-----------------	--------------------	--------------------------------------

Ninguno	Anti-A, anti-B	O
A	Anti-B	A
B	Anti-A	B
AB	Ninguno	AB

La sangre que se transfunde debe ser del mismo grupo sanguíneo que la del receptor debido a que puede haber anticuerpos contra otros antígenos en el suero. Estos anticuerpos se denominan anti-A o anti-B, dependiendo del antígeno contra el que actúan. Normalmente, el suero no contiene el anticuerpo capaz de destruir su propio antígeno. Por ejemplo, la persona con antígeno A no tendrá anticuerpos anti-A en el suero; sin embargo, puede haber anticuerpos anti-B. Por lo tanto, es necesario realizar pruebas de antígenos y anticuerpos para confirmar los grupos ABO.

NOTA: El cáncer y la leucemia pueden inducir cambios en los grupos sanguíneos o incluso suprimirlos.

Procedimiento y Fundamento

La prueba utilizada es la globular o determinación de aglutinogenos, el antígeno eritrocitario se une con el anticuerpo correspondiente presente en el suero hemoclasificador formando una aglutinación visible.

Técnica:

- En una placa colocar 2 gotas de sangre
- Añadir a la primera gota 1 gota de suero anti – A
- Añadir a la segunda gota 1 gota de suero anti – B
- Mezclar con palillos diferentes las gotas.
- Mirar la Aglutinación.

Interpretación:

Anti A	Anti B	Grupo
+	-	A
-	+	B
+	+	AB
-	-	O

Muestra

Sangre total.

7.2 FACTOR Rh

La sangre del ser humano también se clasifica en Rh positiva y Rh negativa. Esto se debe a la presencia o ausencia del antígeno Rh (actualmente llamado Rho [D]) en la membrana de los eritrocitos que es, después del antígeno A y B, el antígeno más importante en las transfusiones.

Explicación de la prueba

El sistema Rh está formado por antígenos que se pueden someter al mismo tiempo que los del grupo ABO. Sin embargo, muchas veces el único factor que se busca es el Rho (D). Cuando este factor no existe, se realizan más pruebas para identificar otros factores Rh menos frecuentes antes de resolver que la persona es "Rh negativa". Los individuos Rh negativos desarrollan anticuerpos contra los antígenos Rh positivos cuando tienen contacto con sangre Rh positiva; por ejemplo, mediante una transfusión o cuando la sangre del feto Rh positivo se pone en contacto con la sangre de la madre Rh negativa.

Necesidad de tipificar el Rh

El Rh sanguíneo se tipifica por las razones siguientes:

1. Si se administra sangre Rh positiva a un individuo Rh negativo se le puede sensibilizar para que forme anti-D (Rho).
2. Si se administra sangre Rho D-positiva a un receptor con anti-D (Rho) éste puede morir.
3. Es necesario identificar a los candidatos para recibir Rhlg (inmunoglobulina Rh). Esta inmunoglobulina es una solución concentrada de IgG anti-D (Rho) derivada del plasma humano. Una dosis de 1 ml de Rhlg contiene 300 ug y es suficiente para contrarrestar los efectos inmunizantes de 15 ml de paquete globular o 30 ml de sangre completa.

- a. La mujer embarazada tipo Rh negativo cuya pareja es Rh positivo puede tener un feto Rh positivo. Las células del feto atraviesan la placenta originando la producción de anticuerpos maternos. A su vez, los anticuerpos maternos atraviesan la placenta provocando destrucción de los eritrocitos fetales. Este problema, llamado anemia hemolítica del recién nacido (antiguamente eritoblastosis fetal) se acompaña de reacciones que varían de la anemia (ligera o grave) hasta la muerte fetal intrauterina. La manera de prevenirla es inyectando una dosis de Rhlg a la mujer embarazada tipo Rh negativo a las 28 semanas de gestación y otra dosis poco después del parto en el que se obtiene un producto Rh D-
- b. positivo (Rho). Cuando más de 30 ml de sangre fetal penetra en la circulación materna, se produce inmunización posparto al Rh, no obstante la inyección de Rhlg. La Asociación Estadounidense de Bancos de Sangre recomienda examinar una muestra de sangre de las mujeres Rh D-negativas (con riesgo de inmunización) para determinar si se ha producido una hemorragia feto-materna mayor de 30 ml.
- c. También se debe tipificar el Rh en las pacientes con abortos múltiples.

Significado clínico

1. La importancia de los factores Rh estriba en su potencial para conferir inmunidad al recibir una transfusión o durante el embarazo. El factor Rho (D) es el más antigénico; los demás causan isoimmunización con una frecuencia mucho menor. Se deben llenar los criterios siguientes para que haya inmunización contra los factores Rh:

- a. La persona inmunizada tiene factor Rh.
- b. La sangre utilizada para inmunizar contiene factor Rh.
- c. El factor sanguíneo es lo suficientemente antigénico como para producir una reacción.
- d. El volumen de sangre incompatible es suficiente como para inducir la formación de anticuerpos.

Siempre y cuando se llenen estos criterios, otros factores distintos del Rho (D) pueden inducir la formación de anticuerpos en los individuos Rh positivos.

2. En la embarazada tipo Rh negativo con feto Rh positivo y ambos factores, con frecuencia coexisten anticuerpos contra Rh' (C) y anti-Rho (D).

3. Con muy raras excepciones, no se producen anticuerpos anti-Rh a menos que exista algún estímulo antigénico, como sucede con:

- a. El embarazo y los abortos.
- b. Las transfusiones sanguíneas.
- c. La inmunización deliberada, generalmente mediante inyecciones IV repetidas de sangre para cultivar determinado anticuerpo anti-Rh.

Procedimiento y Fundamento

La prueba utilizada para la determinación de este antígeno se logra mediante el uso de sueros específicos de alta potencia; el suero anti D reacciona con el antígeno si está presente formando una aglutinación visible.

Técnica en placa:

- En una placa colocar 1 gotas de sangre
- Añadir 1 gota de suero anti – D
- Mezclar con un palillo las gotas.
- Mirar la Aglutinación.
-

Interpretación:

Aglutinación Rh Positivo
No Aglutina Rh Negativo

Muestra

Sangre total.

Técnica en tubo:

Marque el tubo con el número que le corresponda al paciente

Adicione al tubo solución salina

Tome la muestra capilar y agregar varias gotas de sangre al tubo

Lave los glóbulos rojos con solución salina durante un minuto 3 veces

Marque 3 tubos: uno con A, otro con B y otro con Rh.

Agregue a cada tubo una gota de la suspensión y una gota del correspondiente anti suero: en el tubo marcado con A, una gota del suero anti A, en el tubo marcado con B, una gota del suero anti B y en el tubo marcado con Rh una gota de suero anti D

Mezclar suavemente y llevar a la centrifuga 1 minuto

Leer la aglutinacion

8. El tiempo en el cual comienza a verse la aglutinación debe anotarse y también el que tomo para mostrar una aglutinación franca
9. Al final de los 2 minutos debe anotarse el tamaño de los agregados
10. Igual procedimiento se sigue con el anti B se utilizan células A y B, y para anti D se utilizan las células O positivo y O negativo

8. ANTIGLOBULINA DE COOMBS

Explicación de la prueba

La prueba de Coombs es de dos tipos: el método directo muestra la presencia de complejos antígeno-anticuerpo y el indirecto detecta los anticuerpos que reaccionan únicamente en un medio que los potencializa.

La prueba de Coombs directa se utiliza para buscar complejos antígeno anticuerpo en la membrana de los eritrocitos (in vivo) y glóbulos rojos sensibilizados. Constituye un estudio diagnóstico para:

1. Enfermedad hemolítica del recién nacido, en la que los eritrocitos están sensibilizados y tienen complejos antígeno anticuerpo in vivo.
2. Anemia hemolítica adquirida, cuando el anticuerpo producido reviste las propias células del paciente (autosensibilización in vivo).
3. Reacción transfusional por la recepción de sangre incompatible que, a su vez, ha sensibilizado los eritrocitos del mismo paciente.
4. Sensibilización de los eritrocitos por fármacos. La prueba de Coombs indirecta detecta anticuerpos séricos, muestra anticuerpos
5. maternos anti-Rh durante el embarazo y descubre ciertas incompatibilidades que no se encuentran mediante otros métodos.

Significado clínico

1. La prueba de Coombs directa es positiva en presencia de:
 - a. Anemia hemolítica autoinmunitaria (la mayor parte de los casos).

- b. Reacciones transfusionales.
- c. Tratamiento con cefalotina (75% de los casos).
- d. Medicamentos, como a- metildopa (Aldornet), penicilina, insulina.
- e. Hemoglobinuria paroxística fría.
- f. Enfermedad hemolítica del recién nacido.

2. La prueba de Coombs directa es negativa en las anemias hemolíticas que no son autoinmunitarias.

3. La prueba indirecta de Coombs es positiva en presencia de anticuerpos específicos, generalmente por una transfusión previa o embarazo; anticuerpos inespecíficos, como en la enfermedad de aglutininas frías o en la anemia hemolítica inducida por medicamentos.

8.1 PROCEDIMIENTO Y FUNDAMENTO:

8.1.1 COOMBS DIRECTO:

La reacción se efectúa en vivo, es decir, mientras los eritrocitos están circulando en el individuo.

La prueba se realiza agregando directamente el reactivo de coombs a los eritrocitos, previamente lavados para eliminar otras proteínas no fijadas; una prueba directa positiva significa que la reacción antígeno anticuerpo ocurrió in vivo, es decir que la fijación del anticuerpo sobre el antígeno se realizó en el organismo.

Técnica:

Utilizamos dos tubos marcados como control y muestra, en cada uno de ellos colocar dos gotas de sangre del paciente previamente lavados con solución salina 3 veces para asegurar la completa eliminación de todas las proteínas séricas.

1. Al tubo control le agregamos dos gotas de solución salina fisiológica.
2. Al tubo muestra se le agregan dos gotas del suero de Coombs.
3. Incubar 5 minutos.
4. Centrifugamos a 1000 revoluciones por minuto durante 1 minuto.
5. Leemos el resultado:
6. Aglutinación en el tubo del paciente - prueba positiva.
7. No aglutinación en el tubo del paciente - prueba negativa.

8.1.2 COOMBS INDIRECTO:

Eritrocitos normales son incubados in vitro con el suero en estudio, durante este período si existe un anticuerpo este se fija sobre su respectivo determinante antígeno. Una vez fijado, los eritrocitos son igualmente lavados y al agregar el reactivo Coombs, una prueba indirecta positiva significa que existen anticuerpos libres en el suero de la persona, los cuales pueden ser igualmente auto-anticuerpos o iso-anticuerpos.

Técnica:

- Preparar una suspensión al 2,5 % en solución salina fisiológica de eritrocitos O positivos previamente lavados.
- Depositar una gota de la suspensión de glóbulos rojos en el tubo de ensayo.
- Agregar 2 gotas de suero en estudio.
- Incubar a 37° C por 30 minutos.
- Lavar 4 veces con solución salina.
- Añadir dos gotas de suero de Coombs.
- Incubar 15 minutos a 37° C.
- Centrifugar a 1000 revoluciones por minuto por 1 minuto y observar si hay o no aglutinación:
- Aglutinación - positivo.
- No aglutinación - negativo.

Muestra:

Coombs directo: sangre total del paciente con EDTA.

Coombs indirecto: suero del paciente.

9. MALARIA (PALUDISMO)

Los hemoparasitos más frecuentes en los humanos son:

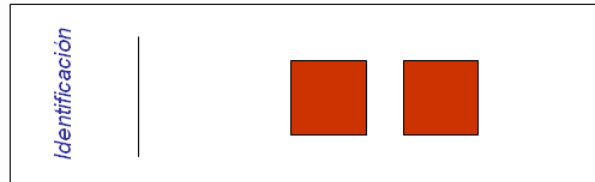
Los géneros de filarias como son: con Vaina: *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi*, *Loa loa*. Sin vaina: *Onchocerca volvulus*, *Dipetalonema perstans*, *Mansonella ozzardi*. Al menos diez especies infectan al hombre.

Para humanos hay cuatro especies de *Plasmodium* que provocan la malaria o paludismo: *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale* y *P. vivax*, de las cuales la

primera es la más virulenta y la que produce la mayor mortalidad. Otras especies infectan a otros animales, incluyendo aves, reptiles y roedores

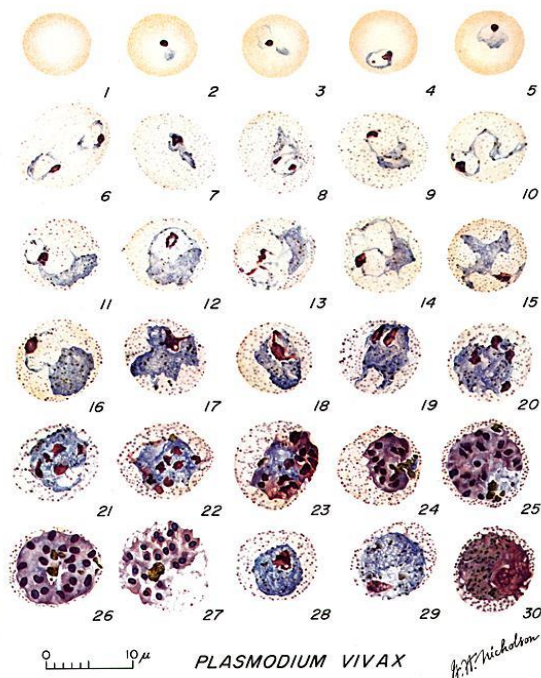
**TOMA DE
PARA**

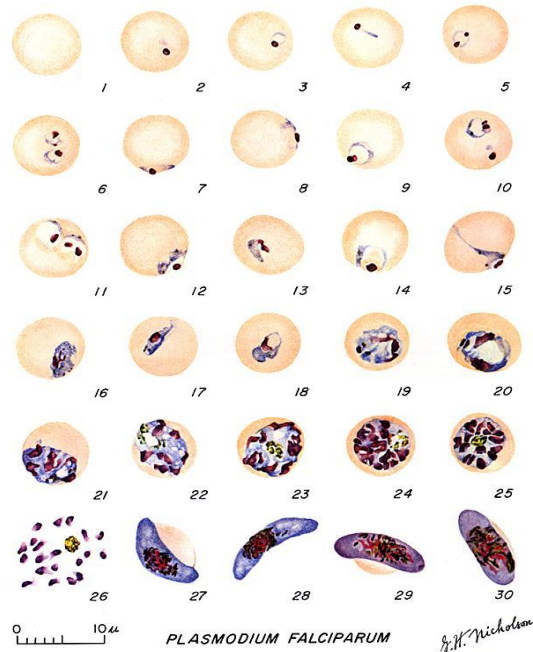
**MUESTRA
GOTA GRUESA**



1 cm X 1 cm

MORFOLOGIA





GENERO PLASMODIUM

La malaria es una enfermedad conocida desde tiempos muy remotos. La enfermedad era atribuida a miasmas o aires de lagunas y pantanos, de allí salieron sus nombres, malaria (mal aire) y paludismo (palustre o pantano).

AGENTES ETIOLOGICOS

Los parásitos causantes de la malaria son esporozoarios del orden Eucoccida, familia Plasmodidae, genero Plasmodium.

Diferentes especies parasitan al hombre y a diversos animales. Las dos especies principales de Plasmodium que afectan al hombre son: *P. vivax* y *P. falciparum*. Existen otras dos especies, de importancia regional, que son *P. malariae* y *P. ovale*.

En sangre circulante se deben diferenciar las formas parasitarias:

- Trofozoito
- Esquizonte
- Merozoito
- Gametocito

CICLOS DE VIDA

Existen dos ciclos diferentes, uno en el mosquito y otro en el hombre. El mosquito es el huésped definitivo y el hombre es el huésped intermediario.

CICLO ESPOROGONICO

Se efectúa en las hembras de mosquitos del genero Anopheles, que se infectan al ingerir sangre de una persona que tenga los parásitos sexualmente diferenciados en machos y hembras (micro y macrogametocitos). Estas formas entran al estomago del mosquito.. los microgametocitos comienzan el proceso de exflagelación, en el cual la cromatina se divide en varios fragmentos, alrededor de 8, que se localizan en la periferia del parásito y originan formas flageladas, móviles, llamadas microgametos, que al liberarse buscan las células femeninas para fecundarlas.

Los macrogametocitos maduran y se transforman en microgametos, en cada uno de estos se forman 1-2 cuerpos polares que se mueven a la superficie del parásito, para recibir un microgameto que lo fecunda.

Ocurre así la fusión de sus cromatinas, para conformar el huevo o cigoto. Este se transforma en una célula alargada y móvil, de aproximadamente 20um de longitud, llamada ooquinete, la cual penetra la pared del estomago del mosquito y se coloca entre las capas epitelial y muscular. Allí crece y se forma el ooquiste que es redondeado, el cual al llegar a su madurez alcanza un tamaño aproximado de 50um. En su interior ocurre la división del núcleo y el citoplasma, para constituir gran cantidad de elementos filamentosos llamados esporozoitos.

Al estallar el ooquiste se liberan los esporozoitos y se diseminan por el cuerpo del mosquito, pero se localizan de preferencia en las glándulas salivares, donde permanecen hasta ser inoculados al hombre durante una nueva picadura.

La duración del ciclo en el mosquito varía entre 7 y 14 días, según la especie de Plasmodium.

CICLO ESQUIZOGONICO

Es el ciclo en el hombre, comienza con la penetración intracapilar de los esporozoitos a través de la piel. Estas formas parasitarias son fusiformes, móviles, de aproximadamente 14um de longitud, que rápidamente pasan a la circulación, donde permanecen alrededor de 30min antes de invadir los hepatocitos. Existen dos etapas de reproducción esquizogonica:

ETAPA PRE-ERITROCITARIA

Se inicia con la penetración de los esporozoitos a los hepatocitos. Dentro de cada hepatocito parasitado se forma el esquizonte tisular primario, constituido por múltiples núcleos con su correspondiente citoplasma, el cual madura y deforma la célula hepática.

Después de 6-12 días sufre ruptura y libera miles de merozoitos titulares, los cuales van a la circulación para invadir los eritrocitos.

En *P. vivax* y *P. ovales* algunas formas titulares se desarrollan muy lentamente en el hígado y pueden permanecer latentes por varios meses, por lo cual se han llamado hipnozoitos. Cuando estos salen tardíamente a la circulación producen las recaídas. Esto no sucede con *P. falciparum* y *P. malarie*.

ETAPA ERITROCITICA

Los merozoitos procedentes de esquizontes titulares invaden los eritrocitos, en donde toman inicialmente forma anillada, denominados trofozoitos, que al madurar adquieren una configuración irregular. Utilizan la hemoglobina para su nutrición. Aprovechando la globina de la célula, de la cual queda como producto residual el pigmento malárico o hemozoína, que aparece en el protoplasma del parásito como acúmulos de color marrón oscuro.

Al dividir su cromatina se constituye el esquizonte, que madura y toma forma de roseta, llamada así por la distribución de los fragmentos de cromatina, el citoplasma y el pigmento malárico.

P. falciparum realiza la formación de esquizontes en los eritrocitos adheridos a las paredes de los capilares viscerales. El esquizonte maduro al romper el eritrocito libera un número de merozoitos, de acuerdo a la especie de Plasmodium. La liberación de merozoitos ocurre cada:

- 48 horas en *P. vivax*, *falciparum* y ovale
- 72 horas en *P. malarie*

Cada una de estas formas del parásito invade un nuevo eritrocito y da comienzo a otro ciclo eritrocítico. Algunos merozoitos, al parecer, tienen una determinación genética para constituir los elementos masculinos y femeninos (gametocitos), que circulan como formas infectantes para los mosquitos y no producen sintomatología en el hombre. Estos gametocitos no llevan a reactivación de la infección humana y si no son ingeridos por los mosquitos, desaparecen espontáneamente de la sangre.

En *P. falciparum*, los gametocitos aparecen en la sangre circulante 1-3 semanas después de haber parasitemia asexual y permanecen 4-6 semanas después de terminada.

En *P. vivax* aparecen y desaparecen junto con las formas asexuadas.

ALTERACIONES EN EL ERITROCITO

Los cambios de los eritrocitos son más intensos en *P. falciparum* y consisten en:

- Pérdida de la elasticidad
- Citoadherencia
- Aumento de la fragilidad
- Transporte de oxígeno disminuido
- Liberación de toxinas y antígenos

ALTERACIONES POSTERIORES AL DAÑO ERITROCITARIO

Existen varios mecanismos y los más acentuados o exclusivos son de *P. falciparum*:

- Hemólisis
- Bloqueo capilar
- Vasodilatación y aumento de la permeabilidad capilar
- Defectos de la coagulación

ALTERACIONES EN LOS ORGANOS

Las vísceras se pigmentan de color oscuro por el almacenamiento del pigmento malárico en las células. En *P. falciparum* se observan abundantes eritrocitos parasitados en los capilares viscerales.

- Bazo
- Cerebro
- Riñones
- Pulmones
- Otros órganos

DIFERENCIAS MORFOLOGICAS DE PLASMODIUM HUMANOS EN SANGRE PERIFERICA

CARACTERISTICAS

P. VIVAX ERITROCITO PARASITADO Hipertrofiado, deformado, pálido. Granulaciones de Shüffner. Infección múltiple poco común.

P. FALCIPARUM ERITROCITO PARASTADO Tamaño normal. Infección múltiple frecuente. Escasas granulaciones de Maurer.

P. MALARIE ERITROCITO PARASITADO Tamaño normal. Granulaciones de Ziemann, difíciles de observar.

P. OVALE ERITROCITO PARASITADO Hipertrofiado, irregular, ovalado. Granulaciones de Shüffner abundantes.

- P. VIVAX TROFOZOITOS JOVENES Grandes. De forma anillada.
- P. FALCIPARUM TROFOZOITOS JOVENES Pequeños, ocupan 1/6 parte del eritrocito. Algunos periféricos. A veces con doble cromatina.
- P. MALARIE TROFOZOITOS JOVENES Formas anilladas en banda.
- P. OVALE TROFOZOITOS JOVENES Forma anillada y ovalada.

- P. VIVAX TROFOZOITOS ADULTOS Formas grandes, ameboides. Ocupan 2/3 partes del eritrocito.
- P. FALCIPARUM TROFOZOITOS ADULTOS Raras veces salen a la sangre periférica.
- P. MALARIE TROFOZOITOS ADULTOS Formas grandes en banda, ocupan 1/3 parte del eritrocito.
- P. OVALE TROFOZOITOS ADULTOS Grandes, ovalados, irregulares.

- P. VIVAX ESQUIZONTES Grandes, ameboides. Pigmento malárico. Originan generalmente 16 merozoitos.
- P. FALCIPARUM ESQUIZONTES Muy raras veces salen a la sangre periférica. Pigmento malárico. En vísceras originan generalmente 16 o más merozoitos.
- P. MALARIE ESQUIZONTES Formas en banda y en roseta. Pigmento malárico. Originan generalmente 8 merozoitos.
- P. OVALE ESQUIZONTES Irregulares. Pigmento malárico. Originan de 8 a 12 merozoitos.
- P. VIVAX GAMETOCITOS Grandes, esféricos. Abundante pigmento malárico y granulaciones.
- P. FALCIPARUM GAMETOCITOS Formas en semiluna o “salchicha”. Pigmento malárico.
- P. MALARIE GAMETOCITOS Semejantes a los de P. vivax pero más pequeños.
- P. OVALE GAMETOCITOS Redondeados y ovoides. Pigmento malárico.

DIAGNOSTICO LABORATORIO

Para la búsqueda de parásitos circulantes se recomienda el periodo afebril (ciclo eritrocítico) después del paroxismo febril, para localizar los trofozoitos jóvenes, ya que la esquizogonia ocurre a nivel de los capilares. Los gametocitos persisten durante más tiempo que las otras formas, aun después del tratamiento completo con curación de la infección y por lo tanto su presencia no indica enfermedad. La mayor seguridad en el diagnostico de pacientes que han recibido drogas antimaláricas o en las formas crónicas, se recomienda tomar muestras cada 6-8 horas durante 3 días.

El examen microscópico se hace por gota gruesa y extendido, teñidos con los colorantes derivados de Romanowsky, como son Giemsa, Wright, Leishman y Field.

En la sangre circulante se pueden encontrar todas las formas del ciclo eritrocítico, inclusive los gametocitos, con excepción de los esquizontes de *P. falciparum*, que solo entran a circular en casos graves de la enfermedad. El recuento de parásitos por mm³ es importante para determinar el grado de infección, seguir la evolución del paciente, para el pronóstico y para la evaluación de la eficacia del tratamiento. Algunos artificios de la preparación o coloración pueden llevar a un diagnóstico erróneo.

GOTA GRUESA

Este procedimiento es más eficaz que el extendido, pues permite visualizar mayor número de parásitos, por la mayor cantidad de sangre que se estudia. Es necesario lisar los glóbulos rojos para permitir la visualización de los parásitos, que quedan fijados a la placa, como ocurre con los leucocitos. Como los eritrocitos se han destruido, no se puede establecer su relación con el parásito. La observación de trofozoitos pequeños en anillo, como únicas formas, sugiere infección por *P. falciparum* y la presencia de trofozoitos y esquizontes orienta hacia el diagnóstico de otras especies. Los gametocitos, si existen y las características morfológicas de los parásitos, completan el diagnóstico en la gota gruesa.

EXTENDIDO

Este método facilita la observación del detalle morfológico de los parásitos y su relación con los eritrocitos, por lo tanto permite confirmar con mayor certeza la especie de *Plasmodium*. En parasitemias bajas este examen puede ser negativo, mientras que la gota gruesa puede ser positiva.

COLORACIÓN DE FIELD

PRINCIPIO:

La coloración de Field es una coloración acuosa basada en la coloración de Romanovsky que consiste en dos soluciones (solución A Y solución B) y una solución tampón (amortiguadora).

La coloración de Field es una coloración rápida para la identificación de hemoparásitos.

El típico color de los núcleos celulares, mayoritariamente color rojo pùrpura, se basa en la interacción molecular, entre eosina y un complejo azr A-ADN. La intensidad de la coloración depende del contenido de Azur A y de la relación entre azur A y eosina Amarilla.

El resultado de tinción puede ser influido por diferentes factores como el valor del Ph de la solución tampón, la sustancia tampón (amortiguadores), el tiempo de tinción y la fijación.

Procedimiento

La lámina con el extendido debe estar completamente seca y se procede de la siguiente manera:

COLORACIÓN DE FIELD

1. Colocar en tubo 3 cm de agua amortiguadora, luego agregar una gota de coloración Field A y 1 gota de coloración Fiel B.
2. Tapar el tubo y mezclar una sola vez.
3. Luego en la coloración Field A introducir la lámina que tiene la gota y contar 3 segundos. Sacar y retirar el exceso de colorante.
4. Después colocar en una caja de petri, 2 palillos de madera y colocar la lámina en sentido contrario de la muestra.
5. Agregar la mezcla anteriormente preparada por el extremo de la lámina portaobjetos, con el fin de que el liquido pase por debajo de la muestra y cubra la muestra.
6. Dejar por 10 minutos y luego enjuagar por encima

NOTA: Los tiempos de coloración se estandarizan de acuerdo a cada laboratorio.

TIPO DE CELULA	RESULTADO
Parásitos sanguíneos	Núcleo rojo Citoplasma del protozoo azul.
Linfocitos	Núcleo azul violeta Citoplasma azul
Monocitos	Núcleo (lobulado) azul violeta Citoplasma azul claro
Granulocitos neutrófilos	Núcleo azul oscuro Citoplasma rosa pálido Gránulos tono rosado en azul claro.
Granulocitos eosinófilos	Núcleo azul Citoplasma rosa pálido Gránulos rojo ladrillo
Granulocitos basófilos	Núcleo púrpura a azul oscuro Gránulos azul oscuro –negros
Trombocitos (plaquetas)	Azul
Eritrocitos	Rojizos

10. LEISHMANIASIS

Son un grupo de enfermedades causadas por protozoos del género *Leishmania*. La enfermedad, que casi siempre tiene un curso crónico, es producida por varias especies y subespecies del parásito.

AGENTES ETIOLÓGICOS

Los protozoos causantes de infección en el hombre, pertenecen a la familia Trypanosomatidae y género *Leishmania*. Morfológicamente todas las especies son similares, con diferencias en el comportamiento biológico, inmunológico, tipo de enfermedad y distribución geográfica. En el huésped vertebrado afecta

el SER y se presenta intracelular en forma de amastigote ovalado o redondeado, inmóvil.

En el huésped invertebrado el parásito se presenta en forma de promastigote, extracelular, alargado.

Las especies del género *Leishmania* se clasifican en complejos; que están conformados por las especies y subespecies:

COMPLEJO DONOVANI

- *Leishmania donovani*
- *Leishmania infantum*
- *Leishmania chagasi*

COMPLEJO TROPICA

- *Leishmania tropica*
- *Leishmania mayor*
- *Leishmania aethiopica*

COMPLEJO MEXICANA

- *Leishmania mexicana*
- *Leishmania amazonensis*
- *Leishmania venezuelensis*
- *Leishmania pifano*
- *Leishmania garnhami*

COMPLEJO BRAZILIENSIS

- *Leishmania braziliensis*
- *Leishmania guyanensis*
- *Leishmania panamensis*
- *Leishmania peruviana*
- *Leishmania colombiensis*

CICLO DE VIDA

Todas las *Leishmanias* poseen un ciclo de vida similar, que incluye insectos de la familia Phlebotominae. Los vectores principales pertenecen a los géneros *Phlebotomus* y *Lutzomyia*. En los huéspedes vertebrados los amastigotes se reproducen intracelularmente por división binaria y al romper las células invaden rápidamente otras. De las células parasitadas a nivel de la piel del vertebrado, los parásitos son tomados por las hembras de los vectores. En la

luz del tubo digestivo, los parásitos se alargan, desarrollan rápidamente el flagelo y constituyen las formas móviles, que se conocen como promastigotes. Existe predilección de ciertas especies de Leishmania para reproducirse en diferentes partes del tubo digestivo del vector, lo cual ha dado lugar a una clasificación en 3 grupos:

- Hypopytoria, en la parte posterior del tubo digestivo
- Suprapytoria, en la anterior
- Peripytoria, en ambas partes

La reproducción se hace por división binaria. Los promastigotes infectantes migran a la parte anterior del insecto, hasta que son inoculados en un nuevo huésped, al comienzo de la picadura. El tiempo que toma el vector para ser infectante es de aproximadamente 10 días. En la naturaleza, la infección de los vectores es baja, por lo cual se requiere que pique repetidas veces para una transmisión adecuada.

Al penetrar los promastigotes por la piel, invaden las células histiocitarias y en su interior se transforman en amastigotes. *L. donovani* se disemina a las vísceras, lo cual no ocurre con las otras especies, que solo se localizan en la piel o mucosas.

LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA AMERICANA

Enfermedad que agrupa la forma mucocutánea y cutánea del Nuevo Mundo. La forma mucocutánea es causada por *L. braziliensis* y posiblemente por *L. panamensis* y *L. guyanensis*. La forma cutánea es producida por las 3 especies mencionadas y por *L. mexicana*, *L. amazonensis*, *L. garnhami* y *L. peruviana*. Existe una variedad de forma cutánea, llamada cutánea difusa, causada por *L. amazonensis*.

DIAGNOSTICO LABORATORIO:

El diagnostico parasitológico muchas veces es difícil de establecer. Especialmente en la lesiones muy crónicas. Se utilizan varios métodos:

FROTIS DIRECTO

En lesiones iniciales sin contaminación bacteriana, se pueden encontrar amastigotes intra o extracelulares.

El material se obtiene cortando o puncionando el reborde de la lesión, para raspar el tejido y así obtener histiocitos o macrófagos parasitados.

Con este material se hacen los frotis que se colorean después de secos, con Giemsa o Wright.

En las leishmaniasis de tipo difuso se encuentran parásitos abundantes; en las úlceras crónicas son escasos.

Cuando han pasado varios años existe fibrosis o contaminación y difícilmente se observan parásitos al extendido.

El diagnóstico etiológico se hace demostrando el parásito en el material que se obtiene del borde de las úlceras, con los procedimientos que se indicaron en leishmaniasis tegumentaria americana.

En los frotis coloreados se buscan los amastigotes, aunque en las lesiones crónicas o contaminadas, los parásitos son escasos. Estos parásitos son más abundantes en las pápulas secas.

En los cultivos se observan promastigotes después de 6 días de sembrada la muestra. La biopsia es útil para comprobar el diagnóstico. La Intradermorreacción de Montenegro es positiva después de varias semanas de la infección le indica contacto previo con el parásito.

11. BIBLIOGRAFIA

FISCHBACH Francés Talaska. Manual de Pruebas Diagnósticas Editorial McGraw Hill Interamericana Editores S.A. Segunda Edición en español de 1997.

SANIN Angel Olga María. Hematología. Corporación Universidad Católica de Manizales. 1ª Edición de 1990.