




GUIA DE HEMATOLOGIA

VERSION 2.0

San Juan de Pasto
2014

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	2

GUIA DE HEMATOLOGIA

PASTO SALUD E. S. E.

Elaborado por:

ANA ISABEL PAREDES CALPA
DORA MILENA LOPEZ
Bacteriólogas

San Juan de Pasto

2014



	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	3

TABLA DE CONTENIDO

RESOLUCION 499 del 26 de Noviembre de 2014.....	5
CONTROL DE CAMBIOS.....	10
INTRODUCCION.....	11
1. GENERALIDADES.....	12
1.1. OBJETIVO.....	12
1.2. ALCANCE.....	12
1.3. RESPONSABILIDAD.....	12
1.4. PERIODICIDAD PARA LA REVISION.....	12
2. DETERMINACION DEL GRUPO ABO.....	13
2.1. MUESTRA.....	13
2.2. REACTIVOS.....	13
2.3. TECNICA.....	13
2.4. INTERPRETACION:.....	13
2.5. CONTROL DE CALIDAD.....	14
3. TECNICAS.....	15
3.1. TÉCNICA PARA DETERMINACIÓN DE Rh (D).....	15
3.2. TÉCNICA PARA DETERMINACION DE D débil.....	15
3.3. COOMBS DIRECTO.....	16
3.4. COOMBS INDIRECTO.....	17
3.5. EOSINOFILOS EN MOCO NASAL.....	18
3.6. FROTIS DE SANGRE PERIFÉRICA.....	19
3.7. GOTA GRUESA.....	21
3.8. HEMATOCRITO.....	23
3.9. HEMOGLOBINA MÉTODO MANUAL.....	24
3.10. HEMOGRAMA AUTOMATIZADO.....	26
3.11. PRUEBA DE LEISHMANIA.....	35
3.12. RECUENTO DE LEUCOCITOS MANUAL.....	37
3.13. RECUENTO DE NORMOBLASTOS.....	38
3.14. RECUENTO DE PLAQUETAS METODO MANUAL.....	39
3.15. RECUENTO DE RETICULOCITOS.....	41
3.16. VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN GLOBULAR O MÉTODO DE WESTERGREN.....	43

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	4

3.17. SISTEMA CERRADO PARA DETERMINACIÓN DE VSG..... 44
ANEXOS

FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	5

RESOLUCIONES

VERSION	PROCESO / PROCEDIMIENTO	CODIGO	NUM
2.0	GESTION JURIDICA	GJ	062

GERENCIA

RESOLUCIÓN No. 499
(26 de noviembre de 2014)

"Por medio de la cual se adoptan unos procedimientos y protocolos de aplicación en los procesos de Atención al Cliente Asistencial de Pasto Salud ESE.

El Gerente de la Empresa Social del Estado Pasto Salud ESE, en ejercicio de sus facultades Constitucionales y legales, el Acuerdo No. 004 del 2006 del Concejo Municipal de Pasto, el Acuerdo N° 008 del 2009 de la Junta Directiva de la empresa Social del Estado Pasto Salud, y teniendo en cuenta los enunciados de la Resolución 2003 de 2014 emitida por el Ministerio de Salud y Protección Social y el Manual de Estándares de Acreditación en Salud adoptado por la Resolución 123 de 2012 del Ministerio antes mencionado,

CONSIDERANDO:

Que, la Empresa Social del Estado Pasto Salud ESE, está comprometida en un proceso de mejoramiento continuo bajo la perspectiva de garantizar seguridad en la prestación de los servicios de salud.

Que, la Resolución 2003 de 2014 emitida por el Ministerio de Salud y Protección Social, mediante la cual se adopta el manual de estándares de habilitación para entidades prestadoras de servicios de salud, en sus diferentes grupos especialmente el relacionado con procesos prioritarios, requiere que las instituciones prestadoras de servicios de salud garanticen la seguridad en la atención a sus pacientes, mediante la implementación de procesos seguros y documentados para todas aquellas atenciones en salud que en dicho manual se contemplan.

Que, los Estándares del Sistema Único de Acreditación en Salud, adoptados mediante Resolución 123 de 2012 del Ministerio de Salud y Protección Social en el grupo de Atención al Cliente Asistencial, igualmente requieren de una serie de procesos y protocolos documentados, que en su implementación garanticen la prestación de servicios de salud bajo condiciones de calidad y seguridad para el paciente.

Que, Pasto Salud ESE, realizó el proceso de autoevaluación de condiciones de habilitación, encontrando oportunidades de mejora especialmente en el grupo de procesos prioritarios, requiriéndose en este sentido documentar e implementar varios procesos orientados al cumplimiento de los estándares de habilitación.

Que, durante el año 2013 Pasto Salud realizó proceso de autoevaluación de estándares del Sistema Único de Acreditación en Salud, encontrando oportunidades de mejora para su cumplimiento, especialmente en la implementación de procesos orientados a garantizar calidad en la prestación de servicios de salud.

Que para cerrar las brechas detectadas en autoevaluación de estándares de habilitación y acreditación, el equipo de salud de Pasto Salud ESE y los Directores Operativos de Red iniciaron un proceso de revisión, actualización y documentación y despliegue de los procesos y protocolos que a continuación se detallan:

- ✓ *Protocolo de comunicación entre el equipo de salud*
- ✓ *Protocolo programa de información a Usuarios y Familias*
- ✓ *Protocolo programa de atención Binomio Madre Hijo*
- ✓ *Protocolo para el manejo del Consultador Crónico*
- ✓ *Protocolo de Identificación Inequivoca de pacientes en Imagenología*
- ✓ *Protocolo de Prevención de Úlceras por Presión*

FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	6

RESOLUCIONES

VERSION	PROCESO / PROCEDIMIENTO	CODIGO	NUM
2.0	GESTION JURIDICA	GJ	062

GERENCIA

- ✓ *Protocolo Prevención de Caídas*
- ✓ *Protocolo de adopción de Guías Clínicas de Atención*
- ✓ *Protocolo de Alertas tempranas frente a valores críticos en Laboratorio Clínico*
- ✓ *Protocolo de atención a Pacientes con Síndrome de Abstinencia por consumo de SPA*
- ✓ *Procedimientos que requieren consentimiento informado*
- ✓ *Protocolo para la identificación e intervención de necesidades emocionales*
- ✓ *Protocolo para el manejo del dolor*
- ✓ *Protocolo para la identificación de grupos poblacionales específicos*
- ✓ *Protocolo de identificación inequívoca de pacientes*
- ✓ *Instructivo manejo de clasificación de víctimas*
- ✓ *Instrumento para el seguimiento al protocolo de identificación inequívoca de pacientes*
- ✓ *Instrumento de seguimiento a procesos*
- ✓ *Metodología y estandarización para el reporte de eventos adversos*
- ✓ *Protocolo de identificación de alergias*
- ✓ *Protocolo de manejo y contenido de carro de paro*
- ✓ *Protocolo para el manejo de pertenencias del paciente*
- ✓ *Estrategia de despliegue de lavado de manos*
- ✓ *Ficha indicadores lavado de mano*
- ✓ *Formato verificación adherencia a lavado de manos*
- ✓ *Lista de chequeo insumos lavado de manos*
- ✓ *Protocolo de muerte cerebral*
- ✓ *Protocolo Código Azul*
- ✓ *Protocolo de Reanimación Cardio Cerebro Vascular*
- ✓ *Protocolo de intubación y Extubación Orotraqueal*
- ✓ *Estrategia de despliegue de la política de seguridad del paciente*
- ✓ *Protocolo de suturas*
- ✓ *Protocolo de lavado de oídos*
- ✓ *Protocolo de extracción de cuerpo extraño de ojos, vías respiratorias superiores y piel*

Guías y protocolos aplicables a laboratorio clínico

- ✓ *Protocolo de control de calidad interna y externa en laboratorio Clínico versión 2*
- ✓ *Protocolo de identificación inequívoca de pacientes y muestras de laboratorio clínico.*
- ✓ *Guía de bioseguridad, limpieza y desinfección en el laboratorio clínico versión 2*
- ✓ *Guía de frotis vaginal y uretral versión 2*
- ✓ *Guía de obtención y envío de muestras para análisis de eventos en salud pública versión 2*
- ✓ *Guía de TSH Neonatal versión 2*
- ✓ *Protocolo de KOH versión 2*
- ✓ *Protocolo de frotis uretral versión 2*
- ✓ *Protocolo de frotis vaginal versión 2*
- ✓ *Guía de Hematología versión 2*
- ✓ *Protocolo Hematología versión 1*
- ✓ *Guía de Inmunología versión 2*
- ✓ *Protocolo de Inmunología versión 2*
- ✓ *Guía de Tuberculosis versión 2*
- ✓ *Guía de Urocultivo versión 2*
- ✓ *Protocolo de Antibiograma versión 2*
- ✓ *Protocolo Tuberculosis versión 2*
- ✓ *Protocolo Urocultivo versión 2*
- ✓ *Guía de Coprológicos versión 2*
- ✓ *Guía de Orinas versión 2*

FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	7

RESOLUCIONES

VERSION	PROCESO / PROCEDIMIENTO	CODIGO	NUM
2.0	GESTION JURIDICA	GJ	062

GERENCIA

- ✓ Protocolo de Orina y Coprológicos versión 2
- ✓ Protocolo de Ácido Úrico versión 2
- ✓ Protocolo de Amilasa versión 2
- ✓ Protocolo de Bilirrubina versión 2
- ✓ Protocolo de Colesterol HDL versión 2
- ✓ Protocolo de Colesterol DLD versión 2
- ✓ Protocolo de Colesterol Total versión 2
- ✓ Protocolo de Creatinina versión 2
- ✓ Protocolo de Fosfatasa Alcalina versión 2
- ✓ Protocolo de Glucosa versión 2
- ✓ Protocolo de Hemoglobina Glicolisada versión 2
- ✓ Protocolo de Microalbuminuria versión 2
- ✓ Protocolo de Nitrógeno Ureico versión 2
- ✓ Protocolo de Potasio Serico versión 2
- ✓ Protocolo de Triglicéridos versión 2
- ✓ Fichas técnicas de Indicadores de Laboratorio
- ✓ Lista de chequeo de identificación de paciente y muestras de laboratorio.

Que los anteriores documentos han sido desplegados al talento humano de la empresa, concertados y ajustados según el consenso de los equipos de trabajo, incluyendo el pilotaje.

Que en Reunión del Comité de Calidad y Seguridad del Paciente realizada el día 25 de noviembre de 2014, los Directores Operativos de Red hicieron el despliegue de los documentos relacionados a los integrantes del Comité, poniendo a consideración para su adopción mediante acto administrativo.

Que el Comité de Calidad y Seguridad del Paciente en dicha reunión aprobó los documentos relacionados que corresponden a los protocolos, guías y procedimientos, y, recomendó al Gerente emitir el correspondiente acto administrativo de adopción.

Que es necesario, los Protocolos, Guías y Procedimientos antes mencionados para que sean implementados en los procesos de atención al cliente asistencial.

En mérito de lo expuesto

RESUELVE:

ARTÍCULO PRIMERO: Adoptar los siguientes Protocolos, Guías y Procedimientos para que sean aplicados en los procesos de atención al cliente asistencial en Pasto Salud ESE:

- ✓ Protocolo de comunicación entre el equipo de salud
- ✓ Protocolo programa de información a Usuarios y Familias
- ✓ Protocolo programa de atención Binomio Madre Hijo
- ✓ Protocolo para el manejo del Consultador Crónico
- ✓ Protocolo de Identificación Inequivoca de pacientes en Imagenología
- ✓ Protocolo de Prevención de Úlceras por Presión
- ✓ Protocolo Prevención de Caídas
- ✓ Protocolo de adopción de Guías Clínicas de Atención
- ✓ Protocolo de Alertas tempranas frente a valores críticos en Laboratorio Clínico
- ✓ Protocolo de atención a Pacientes con Síndrome de Abstinencia por consumo de SPA
- ✓ Procedimientos que requieren consentimiento informado
- ✓ Protocolo para la identificación e intervención de necesidades emocionales
- ✓ Protocolo para el manejo del dolor

FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	8

RESOLUCIONES

VERSION	PROCESO / PROCEDIMIENTO	CODIGO	NUM
2.0	GESTION JURIDICA	GJ	062

GERENCIA

- ✓ *Protocolo para la identificación de grupos poblacionales específicos*
- ✓ *Protocolo de identificación inequívoca de pacientes*
- ✓ *Instructivo manejo de clasificación de víctimas*
- ✓ *Instrumento para el seguimiento al protocolo de identificación inequívoca de pacientes*
- ✓ *Instrumento de seguimiento a procesos*
- ✓ *Metodología y estandarización para el reporte de eventos adversos*
- ✓ *Protocolo de identificación de alergias*
- ✓ *Protocolo de manejo y contenido de carro de paro*
- ✓ *Protocolo para el manejo de pertenencias del paciente*
- ✓ *Estrategia de despliegue de lavado de manos*
- ✓ *Ficha indicadores lavado de mano*
- ✓ *Formato verificación adherencia a lavado de manos*
- ✓ *Lista de chequeo insumos lavado de manos*
- ✓ *Protocolo de muerte cerebral*
- ✓ *Protocolo Código Azul*
- ✓ *Protocolo de Reanimación Cardio Cerebro Vascular*
- ✓ *Protocolo de intubación y Extubación Orotraqueal*
- ✓ *Estrategia de despliegue de la política de seguridad del paciente*
- ✓ *Protocolo de suturas*
- ✓ *Protocolo de lavado de oídos*
- ✓ *Protocolo de extracción de cuerpo extraño de ojos, vías respiratorias superiores y piel*

Guías y protocolos aplicables a laboratorio clínico

- ✓ *Protocolo de control de calidad interna y externa en laboratorio Clínico versión 2*
- ✓ *Protocolo de identificación inequívoca de pacientes y muestras de laboratorio clínico.*
- ✓ *Guía de bioseguridad, limpieza y desinfección en el laboratorio clínico versión 2*
- ✓ *Guía de frotis vaginal y uretral versión 2*
- ✓ *Guía de obtención y envío de muestras para análisis de eventos en salud pública versión 2*
- ✓ *Guía de TSH Neonatal versión 2*
- ✓ *Protocolo de KOH versión 2*
- ✓ *Protocolo de frotis uretral versión 2*
- ✓ *Protocolo de frotis vaginal versión 2*
- ✓ *Guía de Hematología versión 2*
- ✓ *Protocolo Hematología versión 1*
- ✓ *Guía de Inmunología versión 2*
- ✓ *Protocolo de Inmunología versión 2*
- ✓ *Guía de Tuberculosis versión 2*
- ✓ *Guía de Urocultivo versión 2*
- ✓ *Protocolo de Antibiograma versión 2*
- ✓ *Protocolo Tuberculosis versión 2*
- ✓ *Protocolo Urocultivo versión 2*
- ✓ *Guía de Coprológicos versión 2*
- ✓ *Guía de Orinas versión 2*
- ✓ *Protocolo de Orina y Coprológicos versión 2*
- ✓ *Protocolo de Ácido Úrico versión 2*
- ✓ *Protocolo de Amilasa versión 2*
- ✓ *Protocolo de Bilirrubina versión 2*
- ✓ *Protocolo de Colesterol HDL versión 2*
- ✓ *Protocolo de Colesterol DLD versión 2*
- ✓ *Protocolo de Colesterol Total versión 2*
- ✓ *Protocolo de Creatinina versión 2*

FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	9

RESOLUCIONES

VERSION	PROCESO / PROCEDIMIENTO	CODIGO	NUM
2.0	GESTION JURIDICA	GJ	062

GERENCIA

- ✓ *Protocolo de Fosfatasa Alcalina versión 2*
- ✓ *Protocolo de Glucosa versión 2*
- ✓ *Protocolo de Hemoglobina Glicosilada versión 2*
- ✓ *Protocolo de Microalbuminuria versión 2*
- ✓ *Protocolo de Nitrógeno Ureico versión 2*
- ✓ *Protocolo de Potasio Serico versión 2*
- ✓ *Protocolo de Triglicéridos versión 2*
- ✓ *Fichas técnicas de Indicadores de Laboratorio*
- ✓ *Lista de chequeo de identificación de paciente y muestras de laboratorio*

ARTICULO SEGUNDO: *La aplicación de los protocolos, guías y procedimientos adoptados es de carácter obligatorio por parte del equipo de salud en los procesos de atención al cliente asistencial de Pasto Salud ESE.*

ARTÍCULO TERCERO: *El seguimiento a su implementación y cumplimiento se hará por parte de los Directores Operativos en cada Red y por el Equipo de Auditoría para el Mejoramiento de la Calidad a través del programa de auditoría a la calidad del registro y adherencia.*

ARTÍCULO CUARTO: *Una vez los protocolos, guías y procedimientos adoptados sean codificados en Planeación, se publicarán en el servidor documental para ser consultados por el Talento Humano de la Empresa.*


ARTÍCULO QUINTO: VIGENCIA: *La presente resolución rige a partir de la fecha de su expedición.*

COMUNIQUESE Y CÚMPLASE

Dada en San Juan de Pasto, a los veintiséis (26) días del mes de noviembre de dos mil catorce (2014.)


BERNARDO OCAMPO MARTÍNEZ
Gerente

Proyectó: Subgerencia de Salud e Investigaciones.
Revisó: Oficina Asesora Jurídica.

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	10


CONTROL DE CAMBIOS

E: Elaboración del Documento

M: Modificación del Documento

X: Eliminación del Documento


VERSIÓN	CONTROL DE CAMBIOS AL DOCUMENTO	INFORMACIÓN DE CAMBIOS					ACTO ADMINISTRATIVO DE ADOPCIÓN
		E	M	X	ACTIVIDADES O JUSTIFICACIÓN	ELABORÓ /ACTUALIZÓ	
2.0	Aprobación y Adopción de la Guía de Control de Hematología para la Empresa Social del Estado Pasto Salud E. S. E.			x	La presente Guía se realizó como documento de apoyo y consulta en el desarrollo de las actividades diarias del Laboratorio Clínico, teniendo en cuenta la necesidad del servicio y el buen desempeño en pro del aseguramiento y mejoramiento continuo de la calidad.	Ana Isabel Paredes Calpa Dora Milena López Laboratorio Clínico	Resolución 499 del 26 de noviembre de 2014

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	11

INTRODUCCION

Las instituciones de salud, que prestan servicios de baja y mediana complejidad, tienen entre sus servicios de salud el apoyo diagnóstico, siendo de gran ayuda para el personal médico en la determinación de una patología, para lo cual es necesario que se implementen y ejecuten procedimientos que lleven a la optimización de procesos para garantizar y brindar un servicio seguro.

Para poder garantizar la reproducibilidad, consistencia y uniformidad de los distintos procesos en el Servicio de Medicina, es necesario el adecuado ordenamiento y descripción de los procesos a través de un Manual de Procedimientos, guías y protocolos, que son los documentos que proporcionan las instrucciones necesarias para la correcta ejecución de las actividades administrativas o técnicas. La norma ISO 9000 lo define como una "Forma especificada para llevar a cabo una actividad o un proceso". Es necesario que estén al alcance del personal del área que realiza estos procedimientos. Además son vitales para llevar a cabo la implementación del sistema de gestión de la calidad; y por último la estandarización de las pruebas de rutina. Para el desarrollo de las pruebas y técnicas, son necesarios los reactivos de uso diario, los cuales, antes de su utilización, deben pasar por un estricto control de calidad.

 <p>eSe EMPRESA SOCIAL DEL ESTADO PASTO SALUD Nit. 900091143-9</p>	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	12

1. GENERALIDADES

1.1 OBJETIVO

Facilitar al personal que labora en los distintos laboratorios clínicos de la E.S.E. Pasto Salud una guía, que les permita realizar los diferentes procedimientos dentro del área de hematología de forma correcta y acertada, que contribuya al manejo adecuado de los procesos y procedimientos dentro de la atención, cuidado y seguridad del paciente.

1.2 ALCANCE


Para todo el personal de la red de laboratorios clínicos de la E.S.E Pato salud y a los vinculados recientemente que requieran de una descripción clara sobre las pruebas de hematología y para los cuales el laboratorio ha demostrado su competencia técnica y analítica de las mismas.

1.3 RESPONSABILIDAD

Bacteriólogos y auxiliares de laboratorio de la ESE Pasto salud.

1.4 PERIODICIDAD PARA LA REVISION

La revisión de la guía se realiza cada tres años teniendo en cuenta la fecha de aprobación y la resolución, y cada vez que se presente una variación en el desarrollo del procedimiento o técnica utilizada en las pruebas, se debe solicitar y registrarse en el listado de control de documentos.

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	13

2. DETERMINACION DEL GRUPO ABO

Para determinar el grupo hemático, se enfrentan sus hematíes con reactivos específicos: anti – A, anti- B

2.1 MUESTRA

Sangre entera con anticoagulante o suspensión de hematíes al 40% en suero, plasma o solución fisiológica.

2.2 REACTIVOS

Antisueros A, B

2.3 TECNICA

Hemoclasificación directa en lámina:


1. Marcar tres laminas portaobjeto como A, B
2. Adicionar una gota de Anti-A, a la placa A; anti-B a la palca B
3. Mezclar con palillo en forma circular y agitar suavemente durante algunos segundos hasta que forme aglutinación.
4. Cuantificarla por cruces.

Hemoclasificación directa en tubo:

1. Preparar una suspensión de glóbulos rojos al 5%.con s/s.
2. Seleccionar tres tubos e identificarlos como A, B respectivamente.
3. Colocar en el tubo marcado A, dos gotas de suero anti -A; en el tubo marcado B dos gotas de suero anti –B.
4. Agregar a cada tubo dos gotas de la suspensión de hematíes.
5. Mezclar suavemente y centrifugar a 3500 r.p.m por 1 minuto.
6. Desprender el botón de células del fondo del tubo agitándolo suavemente.
7. Observar la aglutinación y cuantificarla en cruces.


2.4 INTERPRETACION

		Anti-A	Anti-B	Grupo ABO
Hematíes estudio	en	+	o	A
		o	+	B
		+	+	AB
		o	o	O

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	14

2.5 CONTROL DE CALIDAD

PARAMETROS A CONTROLAR	REQUISITOS	FRECUENCIA
Aspecto	Ausencia de hemolisis, precipitado, partículas o formación de gel mediante inspección visual	Cada día
Reactividad y especificidad	Ausencia de hemolisis inmune, formación de rouleaux o fenómeno de prozona. Reacciones claras con hematíes que poseen los correspondientes antígenos.	Cada nuevo lote

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	15

3. TECNICAS

3.1 TÉCNICA PARA DETERMINACIÓN DE Rh (D)

3.1.1. Determinación en placa

- **Muestra:** Sangre entera con anticoagulante o suspensión de hematíes 40% en suero, plasma o solución fisiológica.

- **Reactivos:** Reactivo anti-D: los reactivos apropiados pueden ser hiperproteicos policlonales, hipoproteicos químicamente modificados o hipoproteicos monoclonales/policlonales (IgM/ IgG). Seguir las instrucciones del fabricante en cada caso.

- **Técnica:**

1. Colocar 1 gota de glóbulos rojos de la suspensión al 40%
2. Agregar 1 una gota del reactivo anti- D.
3. Mezclar con palillo en forma circular y agitar suavemente durante algunos segundos hasta que forme aglutinación.
4. Cuantificarla por cruces.

3.1.2. Determinación en tubo

- **Muestra:** Glóbulos Rojos lavados y resuspendidos al 5% en solución salina.

- **Técnica:**

1. En un tubo colocar 2 gotas de glóbulos rojos de suspensión
2. Agregar 2 gotas del reactivo anti- D.
3. Mezclar suavemente y centrifugar 1 minuto a 1000 r.p.m.
4. Resuspender suavemente el botón celular observando la presencia de aglutinación.

3.2 TÉCNICA PARA DETERMINACION DE D DÉBIL


- **Muestra:** Suspensión de hematíes al 5% en S/S

- **Reactivos:**

- ✓ Anti-D, con igual consideración que para la determinación Rh(D). Los reactivos deben contener anticuerpos humanos IgG, que reaccionen en la fase de antiglobulina.
- ✓ Reactivo antiglobulina humana (AGH) poliespecífico o anti-IgG.

- **Técnica:**

1. Colocar 2 gotas de la suspensión de hematíes en un tubo limpio y seco.
2. Agregar 2 gotas del anti-D.
3. Mezclar suavemente y centrifugar 1 minuto a 3500 rpm.
4. Resuspender suavemente el botón celular observando la presencia de aglutinación.

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	16

5. Incubar 30 minutos a 37°C
6. Centrifugar 1 minuto a 900-1000 rpm.
7. Resuspender el botón celular suavemente observando la presencia de aglutinación.
8. Si los eritrocitos de la prueba son aglutinados registrar la muestra como Rh D positiva.
Si esta lectura da negativa seguir con el punto 9.
9. Lavar las células 3 veces con solución fisiológica (1 min a 3500 rpm).
10. Después del último lavado, descartar totalmente el sobrenadante y agregar 2 gotas de anti globulina humana (suero de Coombs).
11. Centrifugar 1 minuto a 3500 rpm.
12. Resuspender el botón celular suavemente observando la presencia de aglutinación.

Nota: Si la suspensión de hematíes se prepara con LISS, la incubación es de 10 minutos a 37°C.

- Interpretación:

- ✓ Cuando esta prueba da resultado positivo en fase antiglobulínica, debe considerarse como D débil (antiguamente llamado D^u). Este resultado debe confirmarse con un test de Coombs directo (TCD). La prueba de Coombs directa sirve para identificar aquellos individuos que tienen, en forma anormal, sus hematíes recubiertos por IgG ó C3d y que son aglutinados por la anti globulina humana dando un falso positivo.
- ✓ La ausencia de aglutinación debe ser considerada como un resultado negativo y estos individuos se clasifican como Rh (D) negativo.

3.3 COOMBS DIRECTO

La prueba detecta la presencia de complejos antígeno-anticuerpo sobre la membrana del eritrocitos sensibilizados, de esta manera se puede diagnosticar trastornos como la enfermedad hemolítica del recién nacido. Es importante anotar que los eritrocitos se pueden auto sensibilizar por fármacos.


- Material necesario:

- Muestra tomada con anticoagulante EDTA
- Solución salina
- Suero de coombs
- Serófuga

- Calibración: No aplica

- Descripción del método:

	CONTROL	MUESTRA
GR del paciente (lavados)	2 gotas	2 gotas
S.S	2 gotas	-----
Suero de coombs	-----	2 gotas
Centrifugar por 1 minuto y leer por aglutinación		

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	17

- Control de puntos críticos:

- Se rechazan muestras hemolizadas, coaguladas, que no conserven la relación sangre –anticoagulante.

- Comentarios

- Si el CD es positivo repetir con sueros mono específicos.
- La reacción positiva indica presencia de anticuerpos fijados sobre los antígenos de superficie del hematíe.
- La reacción negativa indica ausencia de anticuerpos fijados sobre los antígenos de superficie del hematíe.
- Un resultado positivo en la prueba de antiglobulina directa suele indicar que los eritrocitos están recubiertos in vivo por inmunoglobulinas, complemento o ambos.
- Pacientes con Anemia Hemolítica Autoinmune (AHAI), Enfermedad Hemolítica del Recién nacido se relacionan con IgG acompañado de fracciones del complemento C3 en un 24% de los casos.
- Pacientes con enfermedad de aglutininas frías se relacionan con fracciones del complemento pero es posible detectar IgM e IgA o ambas.

3.4 COOMBS INDIRECTO

La prueba sirve para la comprobación del anticuerpo IgG libre en suero del paciente. El suero es incubado con una mezcla de eritrocitos grupo sanguíneo O POSITIVO que tienen la mayoría de los antígenos eritrocitarios conocidos.

Si el suero del paciente contiene anticuerpos libres que pueden fijarse al eritrocito estos se aglutinan.


Una prueba de coombs positiva solo es estrictamente verdadera cuando el suero de coombs es de tipo gamma puro, es decir cuando reacciona con la globulina del anticuerpo. Además la prueba:

- Identifica anticuerpos en el suero del paciente
- Revela la presencia de anticuerpos anti-iRH en la sangre de la madre durante el embarazo.
- Tiene valor para detectar incompatibilidades que no se obtienen por otros métodos.

Positivo en:

- Existencia de anticuerpos específicos como resultado de una transfusión o de embarazo.
- Presencia de anticuerpos inespecíficos como en la enfermedad de aglutinación en frío y en anemia hemolítica inducida por fármacos.

Es necesario hemoclasificar al paciente antes de realizar la prueba para comprobar que realmente sea factor rh negativo

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	18

- Material necesario:

- Muestra tomada con anticoagulante EDTA y
- Muestra tomada en tubo sin anticoagulante
- Muestra de un paciente grupo sanguíneo O POSITIVO
- Solución salina
- Suero de coombs
- Albúmina bovina
- Serofuga
- Baño María

Calibración: No aplica

- Descripción del método:

	CONTROL	MUESTRA
GR del paciente (lavados)	2 gotas	-----
Suero del paciente	2 gotas	2 gotas
GR O + (lavados)	-----	2 gotas
Albúmina bovina	2 gotas	2 gotas

- Incubar a 37° c por 20 minutos, centrifugar 1 minuto y leer por aglutinación.
- Lavar tres veces con solución salina.
- Agregar 2 gotas de suero de coombs al control y a la muestra.
- Centrifugar 1 minuto y leer por aglutinación.
- Si el resultado es positivo hacer dilución en cascada del suero del paciente y repetir el procedimiento

- Control de puntos críticos:

- Se rechazan muestras hemolizadas, coaguladas, que no conserven la relación sangre –anticoagulante.


3.5 EOSINOFILOS EN MOCO NASAL

Los Eosinofilos responden a patologías alérgicas. El recuento de Eosinofilos en moco nasal, permite determinar el grado de la afección alérgica (rinitis) y vigilar la respuesta al tratamiento.

- Material necesario:

- Frotis de cada fosa nasal coloreada con Wright
- Aceite inmersión
- Piano cuenta células

- Alistamiento y puesta en funcionamiento del equipo: Hacer limpieza previa del microscopio

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	19

- **Calibración:** No aplica

- **Descripción del método:**

- Realizar frotis de cada fosa por aparte
- Dejar secar
- Colocar con Wright

- **Control de puntos críticos:**

- La aplicación de medicamentos en las fosas nasales afecta el resultado
- La toma de muestra es de alta importancia, se debe sostener firmemente a los niños pequeños para obtener muestras representativas y además evitar un accidente

- **Valores de referencia:** Eosinofilos: 0 - 5 %

- **Control de calidad externo:** No aplica

3.6 FROTIS DE SANGRE PERIFÉRICA

Para diagnosticar los trastornos de la sangre es esencial estar en condiciones de reconocer al microscopio las células normales y anormales de la sangre. A pesar de los adelantos científicos en técnicas hematológicas, incluso estudios con marcadores celulares y procedimientos inmunológicos, el examen de la morfología en el frotis de sangre, continúa siendo una importante investigación inicial en pacientes que sufren trastornos hematológicos.

- **Material necesario:**


- Sangre preferiblemente sin anticoagulante
- Cubre y portaobjetos

- **Alistamiento y puesta en funcionamiento del equipo:** Realizar limpieza del microscopio utilizando papel de arroz para los lentes.

- **Descripción del método:** Realizar lista de trabajo

- **Extendido de sangre:**

- Colocar sobre la placa 5 ul de sangre proveniente de la aguja que no tenga coagulo, caso contrario se debe realizar el extendido del tubo de la muestra con anticoagulante.
- Colocar la laminilla sobre la muestra en ángulo de 30 – 45° por capilaridad la sangre se distribuye uniformemente.
- Hacer una extensión de 30 mm aproximadamente.
- Secar el frotis a temperatura ambiente mínimo quince minutos en posición horizontal.

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	20

- Coloración de Wright:

- Cubrir el portaobjetos por completo con el colorante después de dos minutos agregar una cantidad igual de buffer soplar con suavidad para lograr una mezcla uniforme. Aparecerá un resplandor verde metálico.
- Después de cinco minutos enjuagar bien con agua potable
- Limpiar la parte posterior del portaobjetos para eliminar los residuos del tinte
- Secar a temperatura ambiente colocando el portaobjetos en posición vertical en una rejilla para portaobjetos

- Hacer lectura con objetivo de 100 en la zona ideal del extendido.

- El área más apropiada para estudiar la morfología celular es aquella donde la mayoría de los hematíes apenas se tocan sin llegar a superponerse igualmente debe haber distribución uniforme de los glóbulos blancos.
- Calcular recuento diferencial de leucocitos (Neutrofilos, linfocitos, Eosinofilos, monocitos, basófilos, cayados, blastos, células inmaduras de la línea mieloide).
- En caso de observarse reportar: Los glóbulos rojos nucleados, glóbulos blancos atípicos.
- Determinar las características detalladas de la morfología de los glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas. Informar parásitos que causan paludismo, tripanosomas.

- Control de calidad interno

- Registrar los datos obtenidos
- Control de la coloración de wright y el extendido determinado la calidad de los mismos mediante el uso de muestras conocidas, procedentes de pacientes con diversas patologías tales como: hipocromía, poiquilocitosis, anisocitosis, policromatofilia, trombocitopenia, leucemias y muestras de usuarios normales.

- Control de puntos críticos:


- Se rechazan muestras hemolizadas y coaguladas
- En personas con transfusiones recientes no estudiar la morfología celular. En caso de ser prioritario reportarla, hacer nota aclaratoria sobre esta situación.

- Valores de referencia:

- Morfología globular normal: sin alteraciones morfológicas evidentes en todas las líneas celulares
- Ligera, moderada, marcada hipocromía, poliromatofilia, poiquilocitosis o anisocitosis.

- Control de calidad externo:

El Instituto Nacional de Salud envía seis diapositivas anuales, las cuales son analizadas mediante un visor o proyector.

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	21

- Reporte:

Modelo de reporte de la morfología eritrocitaria:

Anisocitosis, poiquilocitosis, policromatofilia y/o hipocromia.

- Ligera: (+) 1 - 5 células presentan la característica.
Moderada: (++) 6 - 10 células presentan la característica.
Marcada: (+++) Más de 10 células presentan la característica.

Incluir en el reporte: La morfología de los leucocitos – plaquetas y la fórmula leucocitaria

- Línea eritroide: glóbulos rojos
Línea leucocitaria: glóbulos blancos
Línea plaquetaria: plaquetas

3.7 GOTA GRUESA

Mediante el uso de la coloración de FIELD, permite visualizar las formas parasitarias de la malaria.

- Material necesario:


- Laminas
- Cubre objetos
- Lancetas
- Algodón
- Alcohol
- Reactivos para coloración de FIELD
- Aceite de inmersión
- Cronometro

- Alistamiento y puesta en funcionamiento del equipo: Realizar limpieza del microscopio utilizando papel de arroz para los lentes

- Calibración: No aplica

- Descripción del método

- Realizar lista de trabajo
- Puncionar el dedo lateralmente
- Acercar el dedo a la placa
- Colocar dos gotas de sangre extendiéndolas con la laminilla, haciendo una N formando un rectángulo, dejando una distancia de un centímetro entre cada uno.
- Dejar secar a temperatura ambiente por un lapso mínimo de 30 minutos.

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	22

- Realizar coloración
- Hacer lectura de la placa
- Observar mínimo 200 campos

P. Falciparum se debe informar aparte las formas sexuadas de las asexuadas. Observar mínimo 200 campos

Recuento para el PI. Falciparum:

Cálculo:

No. de gametocitos x 80 = No. de gametocitos
microlt. De sangre

No. de trofozoitos x 80 = No. de trofozoitos

Contar el número de gametocitos y el número de trofozoitos de PL Falciparum observados en 100 leucocitos homogéneamente distribuidos.

microlt. De sangre

- Control de calidad interno

Se hace periódicamente:

- Control a la coloración utilizando muestras negativas y positivas de procedencia conocidas.
- Medición de pH del buffer
- Filtración periódica de los colorantes.

- Control de puntos críticos

- Se rechazan muestras que no cumplan con las normas en la coloración del extendido.
- Cumplir esquema de tres gotas gruesas en pacientes con resultados negativos, que sean procedentes de zonas endémicas.
- En pacientes con resultados de gota gruesa inicial positivo, repetirla después de dos días para descartar un caso de malaria mixta.

- Valores de referencia: Negativo


- Control de calidad externo:

El Instituto Departamental de Salud, envía periódicamente pruebas de idoneidad.

Se envía al IDS, el 100% de las placas positivas y 4 placas negativas en los meses de Enero, Abril y Junio para zona andina.

- Registros generados:

Registro diario, Registro de Hemoparásitos, Registro de Control de calidad interno, Reporte de resultados

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	23

3.8 HEMATOCRITO

Esta prueba determina la masa eritrocitaria. Los resultados se expresan como porcentaje de eritrocitos en un volumen de sangre. Constituye una medida muy importante de la anemia o policitemia.

- Material necesario:

- Tubos con anticoagulante EDTA
- Hematocrito con o sin heparina
- Plastilina
- Lector de hematocrito
- Microcentrífuga

- **Alistamiento puesta en funcionamiento del equipo:** La prueba de empaquetamiento de la microcentrífuga se realiza con el fin de determinar el menor tiempo en que la microcentrífuga logra el mayor empaquetamiento. Esta prueba se realiza quincenalmente.

La medición de las revoluciones por minuto la hace el Ingeniero periódicamente con el tacómetro.

- Descripción del método:

- Realizar lista de trabajo
- Colocar las muestras en el agitador
- Introducir el tubo capilar en la muestra y llenar hasta las dos terceras partes, retirar, limpiar y sellar con plastilina
- Colocar los capilares correctamente equilibrados en la microcentrífuga.
- Cerrar bien la tapa interna y externa poner en funcionamiento.
- Centrifugar por tres minutos a 12.000 R.P.M
- Hacer la lectura correspondiente en el lector de Hematocrito


- Control de calidad interno:

Teniendo en cuenta que el analizador de hematología se encuentra completamente calibrado en los diferentes parámetros, utilizamos éste método automatizado como referencia para el control del hematocrito manual. Se hacen controles con niveles bajo, normal y alto procedentes de muestras de usuarios. Anotar en el registro de control interno los valores obtenidos.

NOTA ACLARATORIA: El hematocrito manual da valores mayores respecto al automatizado

- Control de puntos críticos:

- Se rechazan muestras hemolizadas, coaguladas, que no conserven la cantidad la relación sangre –anticoagulante. El uso prolongado del torniquete afecta el valor.

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	24

- No realizar hematocrito capilares a pacientes edematizados, se puede obtener valores menores de lo real.
- El hematocrito puede o no ser confiable después de una hemorragia moderada, e inmediatamente después de las transfusiones.
- El hematocrito puede estar normal durante la hemorragia aguda, pero en la fase de recuperación disminuir en forma acentuada.
- Notificación especial:
- Ante valores muy bajos o altos de hematocrito reportar urgentemente.

- Valores de referencia:

ADULTOS	%
MUJERES	36 - 48
VARONES	42 - 52
NIÑOS	%
0 - 2 Semanas	44 - 64
2 - 8 Semanas	39 - 59
2 - 6 meses	35 - 46
6 meses -1 año	30 - 43
1 - 6 años	30 - 40
6 - 16 años	32 - 42
16 - 18 años	34 - 44

- Control de calidad externo:

Ninguna institución certificada conocida, ofrece el control de calidad para esta prueba. Pero el disponer de un control externo para la hemoglobina, indirectamente permite tener un valor de referencia para el hematocrito.

- Registros generados:


Registro diario, Registro de Hematología, Registro de Control de calidad interno, Reporte de resultados.

3.9 HEMOGLOBINA MÉTODO MANUAL

La Hemoglobina es el elemento transportador de oxígeno en el organismo. Es una proteína heterogénea producida en los eritroblastos desarrollados. El citoplasma de los glóbulos rojos está compuesto en su mayor parte de hemoglobina. La hemoglobina se compone de dos parte básicas: Una cadena proteínica de globina y el anillo hem, el cual contiene hierro. Para su medición se utiliza el reactivo de Drabkin que permite que los derivados de la hemoglobina que están presentes en la sangre puedan convertirse por completo en cianohemoglobina, que se puede medir por espectrofotometría. La prueba de hemoglobina se emplea para evaluar la presencia y severidad de la anemia.

- Material necesario:

- Fotómetro BTS-330

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	25

- Reactivo de Drabkin conservado en frasco ámbar a temperatura ambiente
- Estándar de Hemoglobina
- Fotómetro
- Pipeta automática
- Puntas
- Agua destilada
- Tubos de vidrio
- Cronometro

- Alistamiento y puesta de funcionamiento del equipo:

- Encender el equipo, 10 minutos antes de iniciar a trabajar
- Seleccionar la prueba

- Calibración:


- Pipetear en un tubo de ensayo 10 ul de patrón de hemoglobina (concentración: 15 g/dl hemoglobina humana) y 2,5 ml de reactivo de trabajo (Drabkin)
- Continuar el procedimiento de acuerdo a la descripción del método.
- Calcular el factor.
- Ingrese el factor al equipo.
- Inmediatamente después realice control de calidad interno con hemolizados de valores bajos, normales y altos.

- Descripción del método:

- Realizar lista de trabajo
- Colocar las muestras en el agitador
- Tomar con la pipeta automática 10 ul de muestra, limpiar el exceso de sangre de la punta
- Dispensar la muestra al tubo que contiene 2.5 cc de reactivo de Drabkin
- Mezclar suavemente
- Dejar en reposo durante 5 minutos.
- El equipo lee la absorbancia y determina la cantidad de hemoglobina

- Control de calidad interno:

- Controlar la lectura del blanco del reactivo debe ser menor de 0.005
- Realizar mediciones de hemoglobina utilizando hemolizados comerciales de diferentes niveles de concentración: Bajo, normal y alto.
- Graficar estos datos inmediatamente con el fin de evaluar la calidad de la prueba.
- Después de 21 mediciones calcular la desviación estándar y el coeficiente de variación
- Analizar los resultados obtenidos

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	26

- Control de puntos críticos:

- Se rechazan muestras hemolizadas, coaguladas, que no conserven la relación sangre –anticoagulante.
- El uso prolongado del torniquete afecta la medición.

- Valores de referencia:

Adultos:

MUJERES:	12.0 - 16.0 g/100
VARONES:	14.0 - 17.4 g/100 ml
NIÑOS:	
0 - 2 Semanas	14.5 - 21.5 g/100 ml
2 - 8 Semanas	12.5 - 20.5 g/100 ml
2 - 6 meses	10.7 - 15.0 g/100 ml
6 meses - 1 año	9.9 - 14.5 g/100 ml
1 - 6 años	9.5 - 14.1 g/100 ml
6 - 16 años	10.3 - 14.9 g/100 ml
16 - 18 años	11.1 - 15.7 g/100 ml

- Control de calidad externo:


El Laboratorio Clínico está inscrito en el programa de Control externo con el Instituto Nacional de Salud. Anualmente se analizan seis hemolizados por el método manual y automatizado.

- Registros generados:

Registro diario, Registro de Hematología, Registro de Control de calidad interno, Reporte de resultados

3.10 HEMOGRAMA AUTOMATIZADO

- El hemograma electrónico permite realizar el recuento de eritrocitos, leucocitos y plaquetas con alta precisión, mediante el sistema de impedancia eléctrica también conocido como Principio Coulter. El principio de la impedancia eléctrica mide el número y el tamaño de las células al pasar por un pequeño orificio de acuerdo con los cambios que se producen en la conducción de la electricidad entre dos electrodos (ánodo y cátodo). Igualmente el hemograma automatizado reporta los índices.
- Volumen corpuscular medio: Es el tamaño de los eritrocitos expresado en unidad de volumen, fentolitros (fL) Se obtiene de la relación del hematocrito y el recuento de eritrocitos. El VCM, define los conceptos de microcitosis y macrocitosis, para referirse al tamaño de los eritrocitos: disminuido y aumentado respectivamente. Hemoglobina Corpuscular Media: Se define como la cantidad de hemoglobina en cada eritrocito, expresada en unidad de peso, pico gramos (pg). Se obtiene de la relación de la hemoglobina y el recuento de eritrocitos.

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	27

- Concentración media de hemoglobina corpuscular: Se define como la cantidad de hemoglobina expresada en gramos por decilitro de células rojas empacadas. Define los conceptos de hipocromía, homocromía e hipercromía.
- Hemoglobina corpuscular media: es un promedio del peso de la hemoglobina por glóbulo rojo, se expresa en picogramos.
- Distribución de los eritrocitos: La forma electrónica para determinar el grado de anisocitosis, variaciones en el tamaño de los eritrocitos, que se correlaciona estrechamente con los extendidos de sangre periférica.
- Volumen medio plaquetario – ancho de la distribución plaquetario – plaquetocrito: Permiten el estudio cualitativo y cuantitativo de las plaquetas.

- Material necesario:


- Tubos con anticoagulante EDTA 5% (0,1 anticoagulante en 5 cc de sangre)
- Marcador
- Miniclean: Solución enzimática con acción proteolítica para la limpieza de los contadores
- Minilyse: Solución lisante de eritrocitos, para el recuento de glóbulos blancos y la determinación de hemoglobina
- Minidil: Solución isotónica tamponada utilizada para el recuento de células sanguíneas y medición de hematocrito.
- Minotrol (Controles Alto , Normal y Bajo)
- Equipo ABX Micros ES 60

Alarmas que arroja el equipo para que el profesional encargado del procesamiento verifique con un Extendido de Sangre Periférica lo informado por el equipo:

1. Alarmas relacionadas con limite de referencia:
 - h: Significa que el resultado esta por fuera del límite de referencia
 - H: Significa que el resultado esta por fuera del límite externo.
2. Alarmas relacionadas con Morfología:
 - . Alarmas de plaquetas
 - SCL: Presencia de esquisocitos y agregados plaquetarios
 - SCH: Presencia de pequeñas células en las zonas de los 2 y 3 fl, se debe efectuar un nuevo conteo
 - MIC: Presencia de microcitos

Alarmas de leucocitos

 - L1: Anomalías relacionadas con linfocitos, puede indicar presencia de agregados plaquetarios o eritroblastos.
 - M2: Detecta linfoblastos, mielocitos, linfocitos atípicos o basofilia.
 - G1: Indica eosinofilia, mielocitos o polinucleosis neutrofila
 - G2: Desviación a la izquierda, anomalías en las membranas de los granulocitos o sangre muy vieja.

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	28

G3: Células mayores a 400fl, como metamielocitos

Alarmas de hemoglobina

!: Indica que existe diferencia entre la medida del blanco anterior y la actual, sobrepasa los límites de medición. Es necesario realizar startup o limpieza auto concentrada.

3: alarmas relacionadas con fallas en el equipo.

*: Rechazo de muestra: Indica que la diferencia en tres conteos difiere uno del otro requiere volver a procesar la muestra.

\$: Indica que este parámetro en especial ha sido contado tres veces

D: Indica que el parámetro excede la linealidad, la muestra requiere dilución

- **Alistamiento y puesta en marcha del equipo:** Realice la revisión del estado de los reactivos del equipo, limpieza y drenaje y Remítase al manual operacional del equipo, el cual se encuentra anexo en la hoja de vida del equipo.

- **Inicialización del equipo:** El equipo debe apagarse en horas de la madrugada con el fin de que las mangueras de este se llenen con reactivo de miniclean la cual es una solución similar a un detergente que nos va a ayudar a eliminar impurezas y desprender coágulos evitando fallas en el equipo y daños posteriores; esto hace parte del mantenimiento preventivo diario. El equipo debe mantenerse apagado por un lapso de una hora.

El equipo luego de encendido realiza automáticamente el conteo de fondo:

Limites de background

Leucocitos: menor de 0.3×10^3

Eritrocitos: menor de 0.03×10 a la seis

Hb: Menor de 0.3 g/dl

Pla: Menor de 10×10^3

- **Calibración:** Remitirse al manual operacional del equipo

- **Mantenimientos preventivos:**

Mantenimiento diario:

. **Encendido:** Al inicio de cada jornada es preciso llevar a cabo un ciclo de encendido. Esta tarea se puede realizar de forma manual o automática.

. **Apagado:** Al final de cada jornada es necesario llevar a cabo un ciclo de apagado.

- Pulse botón salir.


- Se mostrara la pantalla salir

- Pulse el botón de opción apagado

- Pulse el botón aceptar

- Una vez finalizado el ciclo de apagado, puede apagar el equipo.

- **Limpieza interior del instrumento:**

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	29

Limpieza concentrada: Para limpiar las cámaras de recuento y las piezas hidráulicas. Para realizar este procedimiento se debe:


- Pulsar el botón correspondiente al menú “mantenimiento”
- Pulsar la ficha “serv”, ubicada en la parte superior derecha de la pantalla, aparecerá el menú servicio.
- Seleccionar el botón “servicios de atención al cliente”
- Se mostrará la ficha “hydrau”, en donde podrá seleccionar la opción de “limpieza concentrada”
- Siga las instrucciones que el programa le suministra. La limpieza concentrada se realiza de la siguiente manera: se abre la puerta del equipo con la llave requerida y posteriormente se adiciona 3 ml de solución limpiadora miniclear empezando por la cámara de eritrocitos y luego adiciones 3 ml en la cámara de leucocitos, se cierra la compuerta del equipo. El equipo está programado para realizar esta limpieza en un lapso de 10 minutos. No olvide consignar esta limpieza en el formato de mantenimiento preventivo del equipo.
- Al terminar el ciclo de limpieza concentrada, realice un ciclo de encendido, para comprobar que los parámetros de blanco de referencia se encuentren dentro de los límites.

Limpieza de la aguja de muestreo:

- Prepare una solución de hipoclorito de sodio en una proporción de 100 ml/l
- Llene un tubo con 5 ml de la solución preparada
- Realice 5 análisis de la solución

- Actividad:

- Realizar lista de trabajo en el registro diario de hematología
- Sacar controles de calidad interno de nevera
- Dejarlos 30 minutos a temperatura ambiente
- Mezclar por inversión cada control antes de ser procesado por el equipo
- Pasar los controles por el equipo. No olvide realizar limpieza de la tapa de los controles para evitar formación de grumos que me puedan alterar los controles.
- Evaluar los resultados obtenidos de los controles
- Mezclar las muestras suavemente, con una rotación continua más o menos 30 veces
- Ingresar muestras al equipo con su código correspondiente, identificación, nombre y edad
- Revisar el resultado obtenido
- Hacer la lectura del extendido de sangre con el fin de complementar y correlacionar con los parámetros e histogramas del hemograma electrónico.
- Correlacionar histograma de glóbulos blancos con recuento de los mismos y diferencial tanto del equipo como del FSP.
- Es muy importante realizar un recuento directo de los leucocitos observando en 10 x donde los glóbulos rojos apenas se toquen entre sí de 3 - 5 campos y obtener un promedio que se multiplica por 300 este cálculo es un valor aproximado que se debe

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	30

relacionar directamente con el recuento reportado por el equipo y que sirve como parte del control de calidad.

- Correlacionar histograma de plaquetas con el recuento.

- **Control de calidad interno:** Diariamente se corren 3 controles comerciales antes de iniciar el análisis de las muestras:

- Analizar los resultados y verificar si los datos son aceptados, de ser así correr las muestras, caso contrario repetir nuevamente el procedimiento hasta obtener un valor aceptable, después de aplicar los correctivos del caso a cualquier inconveniente o interferencia presentada
- A fin de obtener resultados óptimos, estas mediciones deben hacerse con sumo cuidado y en condiciones constantes como sea posible.
- El equipo automáticamente grafica los valores obtenidos, ingresar a cada grafica de calidad y analizar la distribución de los puntos a los lados de la media y si están ubicados dentro de la (s) desviación standard permitida.
- Después de 21 datos se calcula el coeficiente de variación
- Imprimir la gráfica obtenida

- **Control de puntos críticos:** Se rechazan muestras hemolizadas, coaguladas, que no conserven la relación sangre – anticoagulante.

Esperar 20 minutos después de tomada la muestra para procesarla.

- Hacer excepción en casos de urgencia como:
Sangrado masivo – solicitudes del quirófano etc.

- **Presencia de Fragmentos de glóbulos rojos:**


- Verifique el conteo de glóbulos rojos comparando el Hematocrito manual con el automático.
- De ser necesario realice un conteo manual de plaquetas.
- Busque la presencia de las siguientes condiciones en la historia clínica del paciente: CID, quemaduras, reacciones transfusionales, prótesis de válvulas cardiacas.

- **Microcitos:**

- Busque en el frotis la presencia de glóbulos rojos microcíticos.
- Verifique el conteo de plaquetas.

- **Presencia de plaquetas gigantes:**

- Busque en el frotis la presencia de plaquetas gigantes.
- Realice recuento manual de plaquetas.
- Revise el histograma de plaquetas.
- De ser necesario verifique el conteo de glóbulos rojos con un Hematocrito manual.

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	31

- Presencia de cúmulos de plaquetas:

- Verifique la presencia de cúmulos de plaquetas en el frotis
- Revise el histograma de plaquetas y vea si hay irregularidades o picos múltiples
- Obtenga una nueva muestra utilizando una mejor técnica de sangrado.

- Hemólisis in vivo o in Vitro:

- Centrifugue la muestra y observe el plasma para ver si existe Hemólisis.
- Busque en el frotis fragmentos de glóbulos rojos y esferocitos.
- Obtenga una nueva muestra utilizando una mejor técnica de sangrado para distinguir entre Hemólisis in vivo o in Vitro.

- Ruido eléctrico:

- Verifique el conteo de fondo y busque en el histograma anormalidades.
- Haga un hematocrito manual para verificar el conteo de glóbulos rojos.
- Analice la muestra nuevamente.
- Realice ciclo de limpieza.

- Fenómeno de Roleaux causados por anticuerpos fríos o calientes:

- Confirme la presencia de anticuerpos fríos o calientes.
- Si anticuerpos fríos existen, incube la muestra por 10 minutos a 35 °C.
- Glóbulos rojos nucleados:
- Verifique la presencia de normoblastos en el frotis y corrija el conteo de glóbulos blancos Según la fórmula.

- Transfusiones recientes:


Observe los picos múltiples en el histograma que indican la presencia de poblaciones dismórficas.

- Tratamientos médicos por anemias

- Busque en el histograma la presencia de picos múltiples.
- Busque en el frotis la presencia de dos poblaciones de glóbulos rojos.

- Glóbulos rojos resistentes al agente lisante

- Verifique que no se encuentran en la muestra glóbulos rojos nucleados o cúmulos de plaquetas.
- Verifique en la historia médica del paciente la presencia de hemoglobinas anormales como S,C ó S-C.

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	32

- Plaquetas gigantes

- Observe el histograma de plaquetas buscando anomalías Busque la presencia de plaquetas gigantes en el frotis.
- Los glóbulos blancos podrían estar falsamente elevados corríjalos haciendo un conteo de cámara.

- Glóbulos rojos aglutinados

- Observe si los glóbulos rojos están disminuidos. Revise la regla:
- $RBC \times 3 = HGB$
- $RBC \times 9 = HCT$
- $HGB \times 3 = HCT$
- Busque las señales de los glóbulos rojos y anomalías en la parte derecha del histograma.
- Observe la elevación de los parámetros MCV, MCHC y RDW.
- Revise el frotis y busque células rojas aglutinadas.
- Busque en el historial médico la presencia de aglutininas frías o calientes y las transfusiones recientes.

- Presencia de Fibrina

- Busque en el frotis la presencia de fibrina
- Verifique el conteo de glóbulos rojos y plaquetas.

- En caso de Malaria

- Los parásitos pueden estar presentes en la curva de los linfocitos. Busque en el frotis su presencia.

- No hay valle debido a la presencia de células blancas grandes inmaduras

- Observe el histograma.
- Busque en el frotis glóbulos blancos inmaduros.
- Verifique el historial médico del paciente

- No se distingue el pico de los linfocitos


- Realice el diferencial manual

- Linfocitos atípicos

- Realice un diferencial manual

- Aumento de poblaciones mixtas

- Busque la presencia de Monocitos

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	33

- Busque la presencia de eosinófilos

- Incremento de precursores de neutrófilos

- Verifique la presencia de células blancas inmaduras.
- Busque en la historia del paciente la presencia de infecciones, reacciones leucemoides

- Leucemia.

- Realice el diferencial manual y repórtelo

Ausencia de neutrófilos:

- Verifique la historia por la presencia de neutropenia o quimioterapia.
- Reporte el diferencial manual.

- Conteo elevado de glóbulos blancos

- Verifique si se ha excedido la linealidad del instrumento. Si es así haga una dilución con diluyente del equipo y multiplique los resultados por el factor correspondiente

- Satelitismo de plaquetas

- Verifique la presencia de este fenómeno en el frotis. Haga un diferencial manual. Obtenga una nueva muestra cambiando el anticoagulante y mezclando correctamente.

- Neutrófilos hipersegmentados

- Realice un diferencial manual.

- Ruido eléctrico

- Realice el mantenimiento preventivo
- Haga correlación de plaquetas con el extendido

- Plaquetas pequeñas


- Verifique el conteo de plaquetas manualmente.

- Fragmentos de glóbulos blancos

- Verifique si el paciente está bajo tratamiento tóxicos.
- Busque en la historia clínica la presencia de LLC.
- Verifique el conteo de plaquetas y glóbulos blancos y realice un conteo manual si es necesario.

Incremento de recuento de leucocitos causada por la precipitación de proteínas en el mieloma múltiple.

Hiperlipidemia – hiperproteinemia – hiperbilirrubinemia

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	34

En algunos casos se requiere recurrir al método manual para lograr la precisión en la hemoglobina.

- Hiperglicemia

Puede causar un falso aumento del VCM y del hematocrito.

INDICES ERITROCITARIOS: Rangos de referencia

- Volumen corpuscular medio: 86 - 96 fl
- Hemoglobina corpuscular media: 25 – 31 pg
- Concentración de la hemoglobina corpuscular media %: 32 – 38 g/dl
- Ancho de distribución de los eritrocitos: 11.5 - 15.1 %
- Parámetros leucocitarios:


- Recuento de leucocitos: 4.500 – 11.000 / ul

Polimorfo nucleares Neutrófilos	
En el momento de nacer:	60 - 75
1 semana a 6 años:	19 - 63
6 a 16 años	32 - 54
16 a 18 años	34 - 64
mayor de 18 años	50 - 62
Linfocitos:	
En el momento de nacer:	25 - 40
1 semana a 6 años:	40 - 70
6 a 16 años	50 - 70
16 a 18 años	40 - 55
mayor de 18 años	40 - 50
Monocitos :	3 – 8 %
Eosinófilos:	3 – 6 %
Basófilos:	0 – 1 %

- Parámetros Plaquetarios: 150.000 – 400.000 / uL
 Volumen Medio Plaquetario 6.9 – 10.5 fL
 Ancho de Distribución de las Plaquetas 15.4 – 16.8 %

- Variaciones patológicas de los índice eritrocitarios en las anemias más frecuentes:

	MCV	MCH	MCHC
Anemia Normocitica	81 - 98	27 - 33	31 - 34
Anemia Ferropénica	64 - 74	20 - 24	29 - 33
Talasemia	57 - 67	18 - 22	32 - 34
Esferocitosis H.	78 - 90	28 - 32	34 - 36
Anemia Macrocitica	> 98	> 33	> 34

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	35

- Notificación especial:

Enviar informe de inmediato al médico tratante ante datos muy elevados de glóbulos blancos, valores muy altos y bajos de hematocrito – hemoglobina.

- Control de calidad externo:

El hospital está inscrito con el instituto nacional de salud, en el área de hematología, el instituto envía seis muestras de hemolizado para la medición de la hemoglobina.

- Registros generados:

Registro Diario, Registro de Hematología, Registro de control de calidad interno y externo, Reporte de resultados.

3.11 PRUEBA DE LEISHMANIA

La prueba estándar para el diagnóstico de la Leishmaniasis cutánea es el frotis directo método rápido, económico y de fácil realización. El colorante de Wright permite visualizar los amastigotes de Leishmania.


La Leishmaniasis es una zoonosis que afecta la piel, mucosa y vísceras resultantes del parasitismo de los macrófagos por un protozooario flagelado del género de Leishmania, introducido al organismo por la picadura de un insecto Flebotomíno, que en el nuevo continente pertenece a género Lutzomyia.

- Material necesario:

- Guantes
- Alcohol
- Solución salina
- Jabón quirúrgico
- Gasa estéril
- Algodón
- Laminas portaobjetos
- Lancetas
- Hojas de bisturí
- Colorante de Wright
- Microscopio
- Aceite de inmersión
- Lápiz vidriograf
- Cronómetro

- Alistamiento y puesta en funcionamiento del equipo:

- Limpiar los objetivos del microscopio utilizando papel de arroz
- Alistar el cronometro para la coloración

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	36

- **Calibración:** No aplica

- **Descripción del método:**

- Realizar planilla de trabajo
- Colocarse los guantes
- Realice limpieza del sitio de la lesión utilizando gasa impregnada de solución salina
- En caso de haber costra remuévala cuidadosamente.
- Sobre la cara interna del borde de la úlcera realice un raspado con el borde romo de una hoja de bisturí. Hágalo de manera tal que no sangre mucho, presionando el sitio de la lesión hasta hacer isquemia.
- El material así obtenido se extiende en forma suave sobre una lámina portaobjetos nueva, previamente limpiada, desengrasada y debidamente rotulada.
- Tome otras tres muestras de la misma manera colocando dos muestras por lámina portaobjetos.
- Cuando la lesión es abierta el frotis directo se realiza a partir de linfa obtenida por raspado del borde interno de la lesión, sin necesidad de hacer otra incisión. Si la lesión es cerrada como pápula o nódulo se realiza una pequeña incisión con cuchilla de bisturí o un aspirado de la lesión.
- Deje secar las muestras a temperatura ambiente
- Filtrar previamente los colorantes
- Realice la coloración de Wright durante el tiempo.
- Observe al microscopio de luz con un aumento de 100 X todo el frotis para buscar los amastigotes que pueden encontrarse intra o extracelulares. Para identificar un amastigote como tal debe observarse las formas ovaladas o redondeadas y distinguirse claramente el núcleo del quinetooplasto,

- **Control de calidad interno:** Se hace periódicamente

- Estandarización de los tiempos de coloración de Wright.
- Filtración periódica de los colorantes.


- **Control de puntos críticos:**

- Si el paciente presenta más de una lesión obtener la muestra de la lesión mas reciente. La obtención de resultados positivos de la prueba varía de acuerdo al tiempo de evolución de la lesión. A menor tiempo mayor sensibilidad.
- Si el resultado es negativo y se sospecha de una Leishmaniasis, el personal del laboratorio clínico lleva al paciente al laboratorio del IDSN para valoración clínica.
- La capacitación y el interés de bacteriólogo que realiza el procedimiento es importante para esta prueba.

- **Valores de referencia:** Negativo para Leishmania Sp

- **Control de calidad externo:**

El Instituto Departamental de Salud, envía periódicamente pruebas de idoneidad.

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	37

Se envía al IDS, el 100% de las placas positivas. En casos negativos con alta sospecha clínica de Leishmania se solicita a la persona responsable del programa de ETV del IDS, la colaboración para la toma de una nueva muestra y el análisis de la misma. Registro de enfermedades transmitidas por vectores

- Registros generados:

Registro diario, Registro enfermedades transmitidas por vectores, Registro de control de calidad interno y externo, Reporte de resultados.

3.12 RECUESTO DE LEUCOCITOS MANUAL

El ácido acético al 2% lisa los glóbulos rojos pero no los leucocitos ni los eritrocitos nucleados. El líquido de Turk también contiene azul de metileno que tiñe los núcleos. Es necesario corregir el recuento de leucocitos, si el frotis de sangre presenta eritrocitos nucleados.

- Material necesario:

- Tubos con anticoagulante EDTA
- Pipeta automática
- Reactivo o diluyente de Turk (preparar 98 cc de H₂O destilada + 2 ml de ácido acético glacial + 1 gota de azul de metileno)
- Puntas
- Tubos de ensayo
- Reactivo de Turk
- Cámaras de Neubauer
- Láminas de cuarzo
- Papel kleenex

- Alistamiento y puesta en funcionamiento del equipo:


Realizar limpieza del microscopio utilizando papel de arroz para los lentes

- Descripción del método:

- Realizar lista de trabajo
- Aspirar 20 ul de muestra con la pipeta automática, limpiar la punta, dispensar en el tubo que contiene 380 ul de diluyente de Turk
- Mezclar muy bien.
- Desechar la punta en el recipiente respectivo para la desinfección.
- Dispensar en la cámara de Neubauer
- Dejar reposar entre 3 - 4 minutos.
- Observar en el microscopio con el objetivo de 10 X

El ESP en 40X puede guiarnos respecto al número de glóbulos blancos, de la siguiente manera:

DE 2 – 4	GB	X C	entre 4.000 – 7.000	GB X mm ³
DE 4 – 6	GB	X C	entre 7.000 – 10.000	GB X mm ³

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	38

DE 6 – 10 GB X C entre 10.000 – 13.000 GB X mm³
 DE 10 – 12 GB X C entre 13.000 – 18.000 GB X mm³

- Control de calidad interno:

Teniendo en cuenta que existe un analizador de hematología con un control de calidad interno y externo óptimo, lo tomamos como referencia para el control de calidad del recuento de leucocitos por método manual

- Control de puntos críticos:

Se rechazan muestras hemolizadas, coaguladas, que no conserven la relación sangre - anticoagulante apropiada

- El uso prolongado del torniquete afecta los recuentos celulares

- Calculo de resultados:

Contar el número de células en los cuatro cuadrantes de los extremos y multiplicar por 50

- Valores de referencia:

ADULTOS:	5.- 10 x 10 ³ µl
NIÑOS:	
0 -2 semanas:	9.0 - 15 x 10 ³ µl
2 - 8 semanas:	5.0 - 12 x 10 ³ µl
2 meses - 6 años:	5.0 - 10 x 10 ³ µl
6 - 18 años:	4.8 – 10 x 10 ³ µl

- Control de calidad externo:

Ninguna institución conocida certificada ofrece el control de calidad para esta prueba.

- Registros generados:


Registro diario, Registro de Hematología, Registro de Control de calidad interno, Reporte de resultados

3.13 RECuento DE NORMOBLASTOS

Son eritrocitos nucleados que se presentan en anemias hemolíticas, policitemia vera, mieloma múltiple, hematopoyesis extramedular, anemias megaloblásticas.

- Material necesario:

- Muestra tomada con anticoagulante EDTA
- Láminas
- Cubre objetos

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	39

- Reactivo Wright
- Cronómetro
- Aceite de inmersión
- Piano cuenta células
- Microscopio

- Alistamiento y puesta en funcionamiento del equipo:

Hacer limpieza de los objetivos del microscopio con papel de arroz

- Calibración: No aplica

- Descripción del método:

Observación: Si el recuento de normoblastos es mayor del 10% realizar corrección en el número de leucocitos:

- Hacer el extendido sanguíneo
- Colorear con Wright
- Contabilizar el número de normoblastos en 100 leucocitos, aplicando una regla de tres, restar este valor obtenido al número de leucocitos / mm³

- Control de calidad interno:

Se realizan controles de reproducibilidad del dato.

- Control de puntos críticos:

El extendido no cumpla con las normas de calidad.

- Valores de referencia: No aplica

- Control de calidad externo:

Ninguna institución conocida certificada ofrece el control de calidad para esta prueba.


- Registros generados:

Registro de hematología, reporte de resultados.

3.14 RECuento DE PLAQUETAS METODO MANUAL

Las plaquetas son fragmentos de citoplasma de megacariocitos, miden entre 1 – 4 um de diámetro. Circulan entre 8 – 11 días.

Si se produce un daño a nivel de vasos sanguíneos, las plaquetas circulantes forman un taponamiento, constituyendo así el primer paso en el control del daño vascular.

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	40

El recuento manual de plaquetas aplica a fin de correlacionar con el recuento automatizado de plaquetas.

- Material necesario:

- Tubos con anticoagulante EDTA 5%
- Reactivo de wright
- Microscopico
- Piano cuenta células.
- Porta objetos
- Laminillas.
- Aceite de inmersión
- Cronómetro
- Papel de arroz

- Alistamiento y puesta en funcionamiento del equipo:

Realizar limpieza del microscopio utilizando papel de arroz para los lentes

- Calibración: No aplica

- Descripción del método:

- Realizar lista de trabajo: (Registro diario de Hematología)
- Realizar el extendido de sangre que cumpla con las normas de calidad
- Contar en la parte adecuada del extendido (interfase)
- Hacer el recuento en 10 campos que incluya 100 glóbulos rojos cada vez , promediar y multiplicar por 15.000 y si es capilar por 20.000

- Control de calidad interno:

- Realizar el procedimiento por duplicado con dos láminas diferentes (reproductibilidad)

- Control de puntos críticos:


- Muestras que no conserven la relación sangre – anticoagulante
- Muestras hemolizadas y coaguladas
- El uso prolongado del torniquete afecta los recuentos celulares.

- Valores de referencia:

Adultos: 150.000-450.000 x mm³ . Neonatos: 95.000-350.000 7mm³

- Control de calidad externo:

El Instituto nacional de salud envía un CD para el reporte de un ESP cada dos meses, donde incluye las plaquetas.

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	41

- Registros generados

Registro diario, Registro de hematología, Registro de control de calidad interno, Reporte de resultados

3.15 RECuento DE RETICULOCITOS

Los reticulocitos son glóbulos rojos juveniles sin núcleo, que contienen residuos de RNA y quizá de ribosomas en el citoplasma. Cuando los reticulocitos se incuban con los colorantes supravitales como el azul de Cresil brillante, el RNA residual se agrega al retículo y se precipita, formando un complejo ribonúcleo-proteína evidenciando los gránulos de color oscuro o red de reticulina, de allí su aspecto reticulado (filamentos azules).

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 hemólisis; 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.

- Material necesario:


- Muestras tomadas con anticoagulante EDTA
- Tubos de ensayo
- Portaobjetos
- Laminilla
- Colorante azul de cresil brillante
- Pipetas automáticas
- Puntas
- Aceite de inmersión
- Cronómetro

- Aislamiento y puesta en funcionamiento del equipo:

- Realizar limpieza del microscopio utilizando papel de arroz para los lentes
- Encender el Baño para alcanzar la temperatura de 37 ° C

- Descripción del método:

- Realizar lista de trabajo: (Registro diario de Hematología)
- Filtrar el colorante azul de cresil brillante antes de usarlo
- Colocar las muestras en el agitador
- Colocar en un tubo 1 gota de sangre y mezclarla suavemente con 1 gota de azul de cresil brillante. En caso de hematocritos menores o iguales a 28% doblar la cantidad de sangre
- La suspensión sangre-colorante se agita suavemente y se deja a 37° C en baño maría durante 10 días.

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	42

- Realizar el extendido
- Mediante el objetivo de bajo aumento buscar el área más adecuada para realizar el recuento correspondiente, esta zona es aquella dónde los hematíes están bien individualizados y regularmente distribuidos.
- Cambiar a 100 X y contar 10 campos dónde hayan 100 eritrocitos.
- Debido a que la reproductividad de este método de recuento presenta coeficientes de variación elevados, es importante que se realiza sobre el mayor número posible de hematíes, en general, se considera la cifra de 1000 eritrocitos como aceptable.
- Cálculo: realizar una regla de tres se debe informar los reticulocitos corregidos.

$$\frac{\text{HTO PCTE} \times \text{No RETICULOCITOS}}{\text{HTO NORMAL}}$$

- Control de calidad interno:

Probar cada nuevo lote de colorante examinando una muestra de sangre que se sabe es normal. Si se dispone de una muestra anormal conocida debe utilizarse como testigo. Hacer doble montaje de una muestra con el fin de hacer control de reproductibilidad.

- Control de puntos críticos:

- La filtración del colorante azul de cresil brillante es importante para evitar la contaminación de las placas, con precipitados del mismo
- La mezcla de la muestra tomada antes de realizar la dilución con el colorante es definitiva para obtener una alícuota uniforme.
- Muestras hemolizadas, coaguladas y que no conserven la relación sangre anticoagulante son inadecuadas porque alteran la distribución y cantidad de células.
- La muestra solo es estable durante 2 horas para su procesamiento ya que los reticulocitos maduran in Vitro
- El tiempo máximo de incubación de la muestra con el colorante es 10 minutos.
- Extendidos gruesos o muy delgados no son adecuados para el recuento.
- Revise que el material esté completamente limpio puesto que los restos de detergente o hipoclorito interfieren.
- El uso prolongado del torniquete afecta los recuentos celulares


- Valores de referencia:

VARONES:	0.5 - 1.5%	de los eritrocitos totales
MUJERES.	0.5 - 2.5%	de los eritrocitos totales
NIÑOS:	0.5 - 4.0%	de los eritrocitos totales
RECIEN NACIDOS:	2 - 5 %	de los eritrocitos totales

- Control de calidad externo: No aplica.

- Registros generados:

Registro diario, Registro de hematología, Reporte de resultados

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	43

3.16 VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN GLOBULAR O MÉTODO DE WESTERGREEN

La velocidad de sedimentación de eritrocitos VSG mide la velocidad sedimentación de los glóbulos rojos en el citoplasma. Esta prueba se basa en el hecho de que los procesos inflamatorios y necróticos alteran las proteínas sanguíneas, causando que los eritrocitos se aglomeren, se tornen más pesados y es más probable que caigan rápidamente si se colocan en pipeta vertical. La velocidad de sedimentación globular no es diagnóstica de ninguna enfermedad en especial, indica que existe alguna patología que debe ser investigada.

- Material necesario:

- Tubos con anticoagulante EDTA 5%
- Pipeta
- Pipetas de Westergren
- Cronometro
- Papel kleenex
- Soporte para pipeta de sedimentación

- Puesta en funcionamiento del equipo: No aplica

- Calibración: No aplica


- Descripción del método:

- Realizar lista de trabajo
- Aspirar la muestra de sangre con la pipeta hasta aforar el menisco a 0 en la pipeta de Westergren,
- Colocar la pipeta en el soporte en un lugar donde no quede expuesta a la luz directa del sol y que no existan vibraciones ni corrientes de aire.
- Leer después de una hora exactamente.
- El valor numérico en milímetros se obtiene midiendo la distancia entre el menisco de la superficie y el límite superior del sedimento de glóbulos rojos

- Control de calidad interno: Control de reproducibilidad

- Control de puntos críticos:

- Se rechazan muestras hemolizadas, coaguladas que no conservan la relación sangre-anticoagulante.
- Si la muestra se conserva a temperatura ambiente hay que efectuar la prueba antes de que transcurran dos horas
- Mezclar adecuadamente la muestra antes de iniciar con el montaje.
- Realizar un correcto lavado del material.

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	44

- Valores de referencia:

HOMBRES	MUJERES	NIÑOS	RECIEN NACIDO
3 - 15	5 - 20	5 - 15	0 - 8

- Control de calidad externo: No aplica

- Registros generados:

Orden médica, Registro diario, Registro de hematología, Reporte de resultados.

3.17 SISTEMA CERRADO PARA DETERMINACIÓN DE VSG



El Sistema Cerrado para la determinación de la velocidad de eritrosedimentación VSG VACUETTE 1.6 mL se utiliza en la recolección de muestras de sangre venosa y su determinación se realiza dentro del tubo de recolección. El anticoagulante de referencia (CLSI) para esta prueba es el Citrato de Trisodio y se utiliza el método Westergren.

- Descripción:

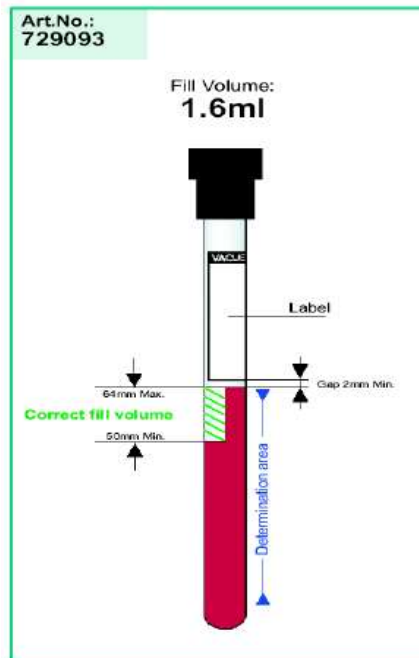
El sistema **VSG** Cerrado consiste en dos partes:


1. Un tubo estéril de 9 x 120 mm con una solución de citrato, el volumen del tubo es 1.6 mL.
2. Una gradilla especial con escala para los tubos de 1.6 mL, para realizar lecturas en 30 minutos.

- Procedimiento de medición para el sistema cerrado VSG VACUETTE 1.6 ml.


1. Luego de tomar la muestra y antes de empezar la medición de la prueba, homogenice suavemente el tubo entre 5-10 veces para obtener una mezcla correcta. Una mala mezcla puede resultar en coagulación y/o resultados incorrectos de VSG. El uso de un agitador rotatorio es recomendado.

- Coloque la Gradilla VACUETTE para VSG de 1.6 ml en una mesa donde no vaya a ser movida o manipulada durante la prueba. No la coloque cerca de sistemas de aire acondicionado, radiadores o instrumentos que puedan causar vibraciones (Ej. centrifugas o refrigeradores). Además, evite posiciones donde quede sujeta a luz solar directa. La mesa de trabajo debe estar nivelada. La temperatura del lugar de trabajo debe estar entre +18 °C y +25 °C.
- Coloque el tubo de 1.6 ml en posición vertical y utilizando la gradilla correspondiente. Realice la alineación de la marca 0 en la parte superior de la escala con la parte inferior del menisco donde se encuentra la interfase sangre-aire.
- Programe el cronómetro para un tiempo de 30 minutos
- Para la gradilla especial para tubos de 1.6 mL, se utiliza un tiempo de 30 minutos. Nota: La gradilla utilizada en tubos de 1.6 ml indica el valor de Westergren de 1 hora después de 30 minutos de lectura.
- Cuando el cronómetro indique la finalización del tiempo, note el nivel del menisco formado entre los eritrocitos sedimentados y el plasma sobrenadante en la escala de la gradilla VACUETTE para VSG de 1,6 ml.
- Descarte los tubos VSG VACUETTE sin abrirlos en un dispositivo de desecho conveniente.
- Se puede realizar la prueba a las muestras refrigeradas inclusive 24 horas después de su recolección, pero antes deben acondicionarse a temperatura ambiente y deben ser homogenizadas antes de la medición.



	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	46

ANEXOS

	GUIA DE HEMATOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-HEM	2.0	47

Anexo No. 1:

Tabla de estandarización de coloración de Wright

Parámetro a evaluar	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Prueba 4	Prueba 5
Calidad del extendido					
Cantidad de colorante					
Tiempo de colorante					
Cantidad de buffer					
Tiempo de buffer					
Color de G.R.					
Color núcleo Linfocitos					
Color Plaquetas					
Definición de Membranas					
Definición de núcleos					
Definición de granulaciones					
Color granulaciones					
p H aspecto					
Precipitado					