

Extendido de sangre periférico

FECHA: 30/Jul/2024

1. Objeto

Dar a conocer la forma correcta de realizar extendido de sangre periférica.

2. Alcance

Aplica para la realización del extendido de sangre periférica en todas las sedes. Los bacteriólogos que procesen muestras de la sección de hematología son los que están en capacidad de realizar esta prueba.

3. Como tomar la muestra

Es importante recordar que el extendido de sangre periférica solamente se debe obtener de una muestra tomada sin anticoagulante; porque cualquiera de éstos, altera la morfología de las distintas líneas celulares de leucocitos y hematíes en el instante en que entra en contacto con la sangre.

La sangre que se utiliza para preparar extensiones sanguíneas, se recoge a partir de una punción digital (sangre capilar) se puede utilizar el método del portaobjetos o del cubreobjetos.

4. Como realizar el extendido en lámina

Escribir el código del paciente en el sistema de información y en un extremo del portaobjetos. Después de la punción cutánea, se desecha la primera gota y se utiliza la segunda (3 a 4 mm de diámetro). Se coloca en un porta por contacto del mismo con la gota que está en el dedo o depositando una gota procedente de una jeringa hipodérmica cuando la sangre se ha obtenido por punción venosa. La gota se coloca aproximadamente a un cuarto de distancia de uno de los extremos del portaobjetos, que se sitúa sobre una superficie plana y se sujetó por el extremo opuesto. Para extender la sangre se utiliza el borde fino de otro portaobjetos o un cubreobjetos que se mantiene en un ángulo de treinta grados aproximadamente con la horizontal. El borde del porta que efectúa la extensión se desplaza hacia la gota de sangre hasta que se efectúa el contacto en el ángulo agudo que forman los dos portas. La gota de sangre se extiende rápidamente por capilaridad a lo largo del borde del porta extenso. Desplazando éste lentamente en dirección contraria se realiza una fina extensión, porque la sangre sigue por detrás del borde del portaobjetos extensor. Las variaciones del grosor de la extensión se consiguen cambiando el tamaño de la gota de sangre, el ángulo del portaobjetos extensor y la velocidad de la extensión.

Nota: Cuando se requiere revisión de la morfología celular o verificación de las alarmas emitidas por el equipo, el extendido se realiza a partir de la muestra con EDTA. La gota de sangre se toma del tubo con un capilar de microhematócrito y se realiza extendido como se indica anteriormente, en caso de que se observe morfología alterada que requiera revisión más detallada el extendido debe realizarse sin anticoagulante.

En el laboratorio se tiene establecido que se confirma con extendido de sangre periférica cuando se cumple una o varias de las siguientes condiciones, todas estas se encuentran codificadas en los instrumentos de medición de hematología para que, cuando se cumpla una de las reglas, el instrumento marque el resultado con un mensaje de "revisar el frotis"

- Edad del paciente menor de 2 años
- Resultado de hemoglobina menor de 11 g/dL
- Ancho de distribución eritroide mayor de 19,0
- Recuento de plaquetas menor de 120.000 o mayor de 550.000 células/ μ L
- Recuento absoluto de leucocitos menor de 3.500 o mayor de 18.000 células/ μ L
- Recuento absoluto de neutrófilos menor de 1.000 o mayor de 20.000 células/ μ L
- Recuento absoluto de linfocitos menor de 400 células/ μ L
- Recuento absoluto de linfocitos mayor de 5.000 células/ μ L en pacientes mayores de 12 años
- Recuento absoluto de linfocitos mayor de 7.000 células/ μ L en pacientes menores de 12 años
- Recuento absoluto de monocitos mayor de 1.500 células/ μ L en pacientes mayores de 12 años
- Recuento absoluto de monocitos mayor de 3.000 células/ μ L en pacientes menores de 12 años
- Recuento absoluto de eosinófilos mayor de 2.000 células/ μ L
- Recuento absoluto de basófilos mayor de 500 células/ μ L
- Recuento relativo de Eritroblastos mayor de 10%
- Alarmas de: aglutinación de eritrocitos, eritrocitos dimórficos, drepanocitos, fragmentos de eritrocitos, granulocitos inmaduros, desviación a la izquierda, linfocitos variantes, sospecha de blastos, agregados de plaquetas, plaquetas gigantes, entre otras
- Resultados con avisos de R (revisar)
- Recuento de reticulocitos mayor de 0,10

Adicional a esto el instrumento de medición saca mensajes de:

- . "Diluir muestra y procesar nuevamente": cuando los resultados de Leucocitos, eritrocitos, hemoglobina, plaquetas o reticulocitos son iguales a: (+) o (++++)
- . "Comprobar coágulos en la muestra": cuando detecta la presencia de agregados de plaquetas, o cuando los resultados de leucocitos, eritrocitos, hemoglobina y plaquetas son iguales a (----)
- . "Realizar diferencial manual": cuando los resultados del diferencial son iguales a (..), (=====) o (:::::)
- . "Comprobar la integridad de la muestra, revisar histórico": cuando los resultados de leucocitos tienen R o P
- . "LLAMAR AL MÉDICO (V. crítico)": cuando el resultado de algún parámetro es valor crítico según lo establecido en el laboratorio

5. Como colorear la placa

Cuando la extensión del portaobjetos está seca se cubre totalmente con el colorante de Wright y se deja 5 min, luego se cubre la placa con Buffer Giordano y se deja otros 5 min, durante el tiempo de coloración se debe soplar para producir el color metálico que ayuda a homogenizar y colorear mejor las células. Hay que procurar que la mezcla del colorante y amortiguador no se derrame. Se enjuaga con abundante agua y se deja secar al aire en una gradilla para placas inclinada. Se elimina el colorante en el otro lado, frotando con una gasa empapada en alcohol.

6. Cómo evaluar la calidad del extendido

- El extendido debe cumplir con las 3 secciones para su correcta lectura: Cabeza es la zona más gruesa del extendido, El cuerpo ocupa la mayor parte de la extensión con espesor uniforme, la cola es la parte final del extendido con terminación irregular y delgada.

- El extendido no debe tener grasa: Placa sin agujeros y huecos sin sangre
- La extensión debe ser de bordes regulares sin ondulaciones o surcos, la extensión en conjunto no debe cubrir la superficie total del porta objetos.
- En pacientes con hemoglobinas normales, la placa no debe ser en exceso gruesa ni delgada
- La célula guía para control de coloración es el monocito, el citoplasma debe quedar coloreado azul- grisáceo y el núcleo con estructura vesicular fina, gránulos rosados finos
- Los glóbulos rojos deben tener coloración rosada a naranja.

En el laboratorio, se tiene establecido que se evalúa periódicamente (semanalmente) la calidad de los extendidos de los bacteriólogos con el cumplimiento de los criterios anteriormente establecidos así como los criterios definidos para la realización de los extendidos (ver numeral 4), los resultados de esta evaluación se registran en el formato FO-HE-03

7. Reporte de morfología celular en el extendido de sangre periférica

Se adopta la metodología de reporte de la nomenclatura y clasificación de las características morfológicas de las células sanguíneas de acuerdo a las más recientes recomendaciones de la ICSH (International Council for Standardization in Haematology/ Consejo Internacional de Normalización en Hematología) y el consenso colombiano: consenso nacional para la estandarización del reporte de extendido de sangre periférica como se indica a continuación:
TABLAS: 1 Y 2

Tabla 1

Gradación de la morfología según recomendaciones del ICSH para la estandarización de la nomenclatura y clasificación de las características morfológicas de las células sanguíneas periféricas*

	SISTEMA DE GRADACIÓN		
	Pocos – 1+	Moderado – 2+ %	Muchos – 3+ %
Nombre de la célula			
CÉLULA ROJA (RBC)			
Anisocitosis	N/A	11-20	>20
Macrocitos	N/A	11-20	>20
Megalocitos (Macrocitos ovales)	N/A	2-5	>5
Microcitos	N/A	11-20	>20
Células hipocrómicas (hipocromía)	N/A	11-20	>20
Policromasia (policromatofilia)	N/A	5-20	>20
Acantocitos	N/A	5-20	>20
Queratocitos (Células mordidas)	N/A	1-2	>2
Equinocitos	N/A	5-20	>20
Eliptocitos (Ovalocitos)	N/A	5-20	>20
Esquistocitos	<1%	1-2	>2
Células falciformes	N/A	1-2	>2
Esferocitos	N/A	5-20	>20
Estomatocitos	N/A	5-20	>20
Codocitos (Células diana)	N/A	5-20	>20
Dacriocitos (Célula en lagrima)	N/A	5-20	>20
Punteado basófilo	N/A	5-20	>20
Cuerpos de Howell Jolly	N/A	2-3	>3
Cuerpos de Pappenheimer	N/A	2-3	>3
GLOBULOS BLANCOS (WBC)			
Cuerpos de Dolhe	N/A	2-4	>4
Vacuolas (neutrófilos)	N/A	4-8	>8
Hipogranulación (neutrófilos)	N/A	4-8	>8
Hipergranulación	N/A	4-8	>8
PLAQUETAS			
Plaquetas gigantes	N/A	11-20	>20

Tabla 2

- Ligera anisocitosis : hasta un 10%
- Macrocitos: hasta un 10%
- Macrocitos ovales: hasta un 1%
- Microcitos: hasta un 10%
- Células hipocromicas:hasta un 10%
- Acantocitos: hasta un 4%
- Ovalocitos: hasta 4%
- Estomatocitos: hasta un 4%
- Equinocitos: hasta un 4%
- Policromatofilia: hasta un 4%
- Esferocito: hasta un 4%
- Codocitos: hasta un 4%
- Dacriocitos: hasta un 4%
- Punteado basófilo: hasta un 4%
- Cuerpos de Pappenheimer: hasta 1%
- Cuerpos de Howell Jolly: hasta 1%

ALTERACIONES QUE EN MUY BAJO PORCENTAJE SON SIGNIFICATIVAS

- Macrocitos ovales: 2-5% (++)
- Queratocitos: 1-2% (++)
- Esquistocitos: < 1% (+) 1-2% (++)
- Células falciformes: 1-2% (++)
- Cuerpos de Pappenheimer: 2-3% (++)
- Cuerpos de Howell Jolly: 2-3% (++)
- Fenómeno de Rouleaux cuando se observa

8. Morfología de Eritrocitos

En todos los resultados en los cuales se reporta algún tipo de morfología de glóbulos rojos, se pone una nota que especifica que el reporte se hace de acuerdo a los consensos internacionales: "Gradación de la morfología según recomendaciones del ICSH"

Adicional a los parámetros que se encuentran estandarizados para reporte en cantidad (como se muestra en las tablas anteriores), se debe tener en cuenta los siguientes reportes:

. Fenómeno de rouleaux: Las estandarizaciones nacionales e internacionales sugieren reportar la presencia cuando se observe. En el laboratorio se reportará esta anomalía como "Se observa"

. Aglutinación: el consenso nacional sugiere usarlo para reportar el fenómeno de aglutinación que se genera por la presencia de crioaglutininas o anticuerpos fríos, en la plantilla del laboratorio existen dos opciones para su reporte:

1. Se observa

2. Nota precodificada: "Por presencia de aglutininas frías en la muestra no se reportan los demás parámetros del eritrograma"; esta nota se usa para los casos en los que la aglutinación es muy evidente y a pesar de que se caliente la muestra no es posible obtener lecturas de parámetros como HTO, VCM, ADE etc. En los casos en los que se observa esta aglutinación, lo ideal es repetir una nueva muestra, en la medida de lo posible con el paciente en el laboratorio (al lado del instrumento de medición) y procesando inmediatamente la muestra para evitar al máximo la interferencia de las aglutininas en todas las lecturas, si luego de repetir la muestra y procesarla en el menor tiempo posible, persiste la aglutinación solo debemos validar el resultado de hemoglobina y poner esta nota precodificada

. Microorganismos en glóbulos rojos: se reporta la presencia de microorganismos cuando se observen dentro o por fuera de los glóbulos rojos:bacterias, hongos o parásitos, en el caso de que se observe malaria, reportar, en lo posible la especie

9. Morfología de Leucocitos

Adicional a los parámetros que se encuentran estandarizados para reporte en cantidad (como se muestra en las tablas anteriores), se debe tener en cuenta los siguientes reportes:

. **Hiposegmentación de neutrófilos (Pelger y pseudopelger Huet):** se debe reportar la presencia de estas células de dos formas:

Pseudo pelger Huet: cuando se observan algunos neutrófilos hiposegmentados COMBINADOS con neutrófilos normales (estos casos son los más frecuentes, se observan en procesos infecciosos, síndromes mielodisplásicos, entre otros)

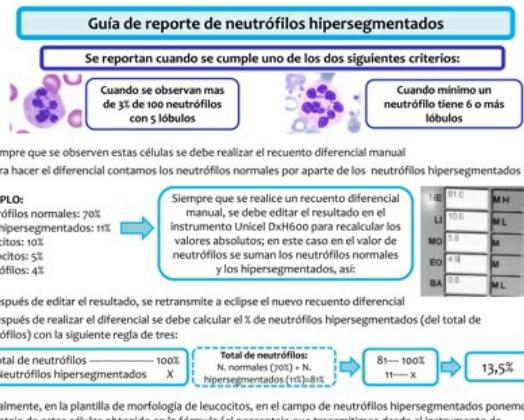
Pelger Huet: cuando se observan que TODOS los neutrófilos son hiposegmentados (esta situación se encuentra cuando hay un daño genético específico (homocigoto) en el gen del receptor B de la lámina nuclear y es menos frecuente)

En el sistema del laboratorio, están codificadas ambas formas de reporte, se debe seleccionar alguna de las dos según corresponda la morfología

. **Hipersegmentación de neutrófilos:** los neutrófilos hipersegmentados se reportan cuando se cumple uno de los dos siguientes criterios:

1. Cuando se observa más del 3% de neutrófilos con 5 lóbulos
2. Cuando mínimo un neutrófilo tiene 6 o más lóbulos.

Cuando se cumple uno de los dos casos se debe reportar el porcentaje de neutrófilos que tienen la anomalía como se muestra en la siguiente guía:
En el sistema del laboratorio, existe una nota precodificada para el reporte de neutrófilos hipersegmentados así: "se observan en ---% del total de neutrófilos" se debe completar antes del signo de porcentaje, el resultado del cálculo de neutrófilos hipersegmentados



. **Anomalía de Chediak- Higashi:** se caracteriza por la presencia de neutrófilos con gránulos pleomórficos anormales grandes. La presencia de esta anomalía se reporta como "se observa"

. **Cambios displásicos:** se reportan el conjunto de alteraciones en la maduración de las células como el cambio de tamaño, hipo o hipergranulación, entre otras.

. Reporte de células inmaduras y células con morfología anormal:

Para realizar el reporte de estas células, lo más importante es definir el tipo de célula que estamos observando: células inmaduras o células con morfología anormal:

- **Células inmaduras:** son las células que exhiben características típicas de inmadurez (blastos) como cromatina laxa, relación núcleo/citoplasma aumentada, presencia de nucléolos y citoplasma escaso y basófilo. Recordemos que al reportar estas células se enfoca el diagnóstico hacia leucemias agudas (cuando la cantidad de estas células supera el 20%).

Por directriz de la dirección del laboratorio, no se debe usar la palabra "blasto" para definir estas células en el extendido de sangre periférica; sin embargo en algunas ocasiones, cuando las hematólogas lo requieran, en pacientes con diagnóstico conocido, se pueden describir las células inmaduras como blastos)

- **Células con morfología anormal:** corresponde a las células que no presentan características morfológicas típicas y que por morfología no se pueden clasificar como maduras ni como inmaduras, por ejemplo que tienen citoplasmas con proyecciones, cromatina de maduración intermedia, entre otras

El reporte de estas células se compone de dos partes:

1. Reporte en porcentaje y valor absoluto: en las plantillas del reporte del laboratorio se encuentra codificado de la siguiente manera:
"se observa ---% (---X10³/μl)", se debe completar el valor % y absoluto de acuerdo al número de células observadas

2. Descripción detallada de las características de la célula: la descripción de las células, se debe realizar de afuera hacia adentro, es decir: tamaño, citoplasma y núcleo.

En la plantilla del laboratorio se encuentran estas tres opciones y en cada una de ellas diferentes características: (ej: citoplasma abundante, irregular, regular, basófilo, con proyecciones, con vacuolas, etc), se seleccionan únicamente las características que se acomoden a la morfología de las células que se observen y se separan con el signo coma (,)

IMPORTANTE: Es importante recordar que el instrumento de medición únicamente hace recuento diferencial de 5 células: neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos; por lo tanto, SIEMPRE que se observen células diferentes a estas (ej: promielocitos, mielocitos, metamielocitos, bandas, Linfocitos reactivos, células inmaduras, células con morfología anormal, entre otras) SE DEBE MODIFICAR EL RECUENTO DIFERENCIAL QUE HACE EL INSTRUMENTO DE MEDICIÓN e incluir las células que se observen en el diferencial de 100 células, posteriormente se debe editar el resultado en el instrumento y retransmitirlo a eclipse, después de retransmitir el resultado se deben cambiar los porcentajes que sean necesarios para incluir por ejemplo en la plantilla las células que correspondan (inmaduras, metamielocitos, mielocitos, etc)

Procedimiento para editar resultados en el instrumento de medición DxH600: Ubicar el resultado del paciente que se desea editar, dar clic en modificar, se abre una pantalla que permite modificar los resultados del diferencial, modificar los resultados de acuerdo al recuento manual, asegurar que el sistema recalcule los valores absolutos, clic en aceptar y clic en liberar resultado

10. Morfología de plaquetas

Adicional a las recomendaciones nacionales e internacionales para el reporte de la morfología de plaquetas, el laboratorio médico de referencia desarrolló los siguientes algoritmos para el reporte de la morfología y para resolver los casos de pseudo trombocitopenia cuando se generen

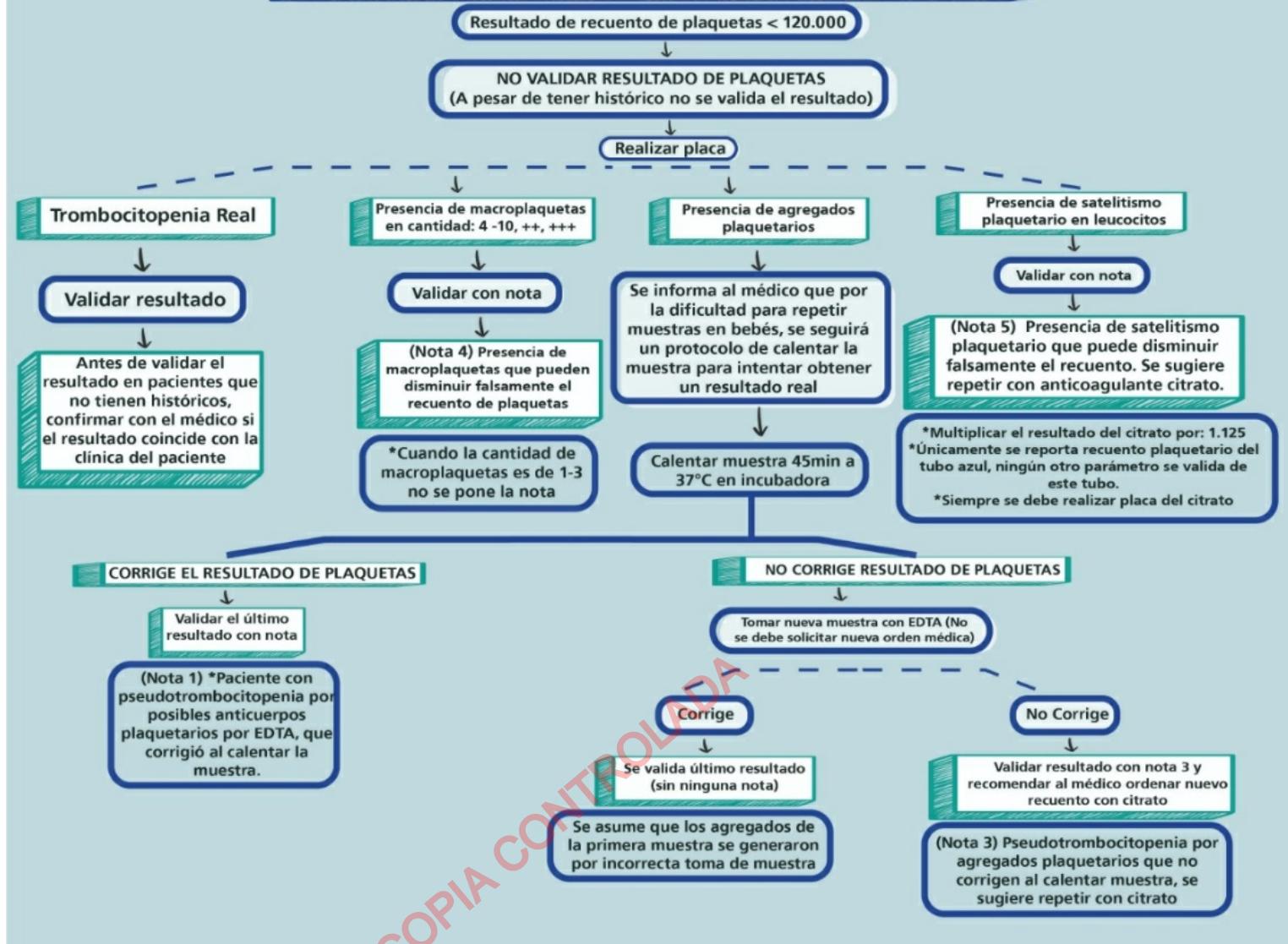
Es muy importante seguir paso a paso cada algoritmo para saber qué decisión se toma con la muestra, que información se le da al médico y que nota se debe poner en el resultado en cada caso

Los agregados plaquetarios y el satelitismo, (a diferencia de las macroplaquetas) no se reportan por cantidad (cruces), porque los consensos nacionales e internacionales no los especifican; sin embargo se considera importante reportarlos dado que la presencia de estos en cantidad moderada y abundante, puede alterar los recuentos de plaquetas.

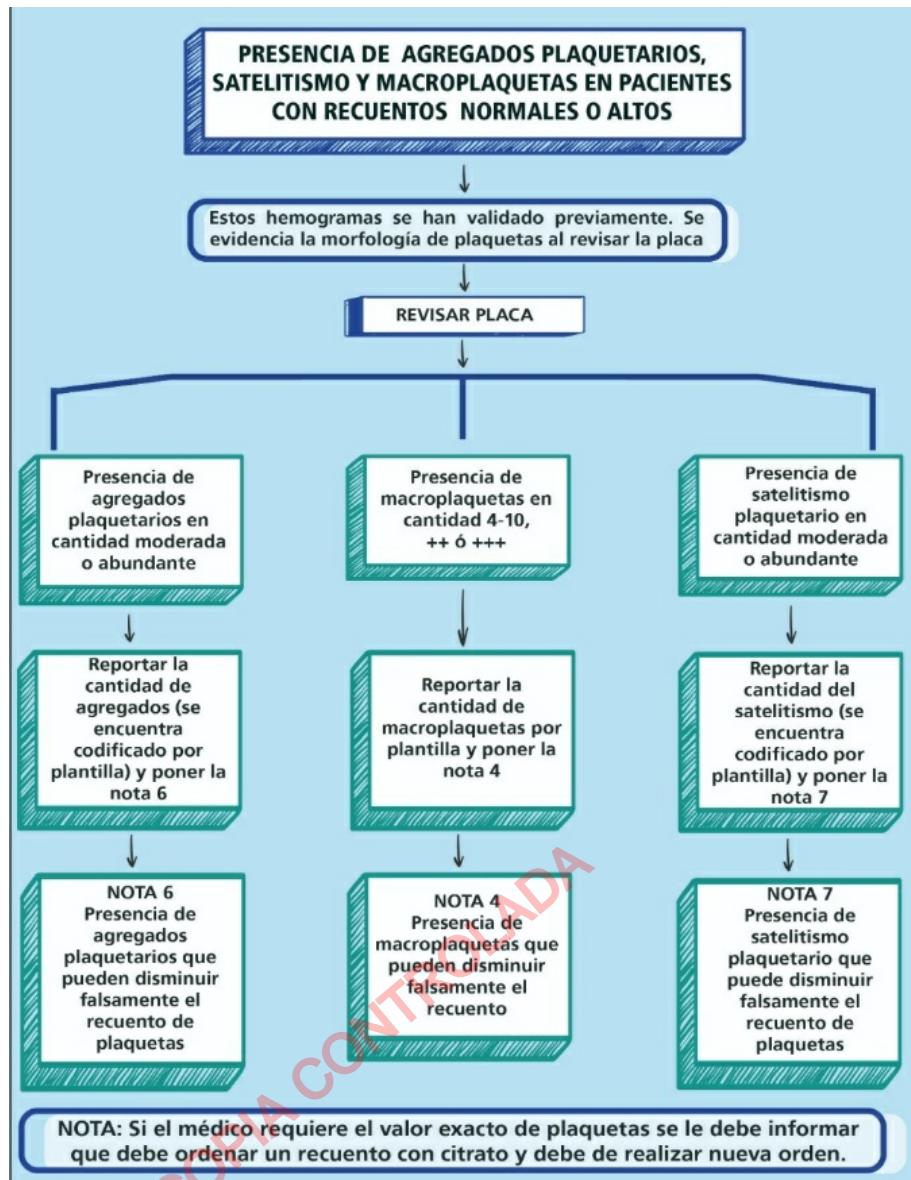
11. Algoritmos

Trombocitopenia en neonatos y pacientes pediátricos

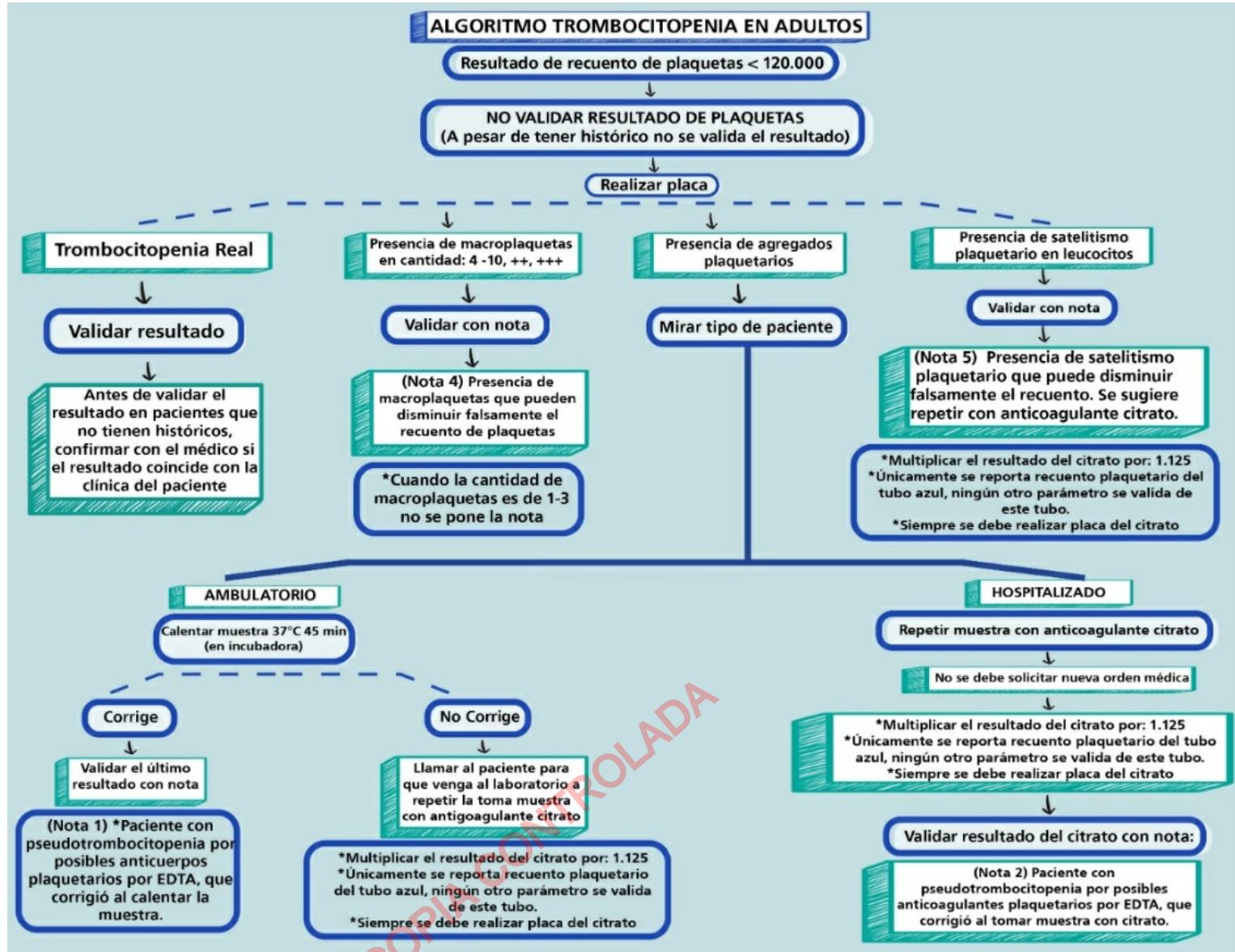
ALGORITMO TROMBOCITOPENIA EN NEONATOS Y PACIENTES PEDIÁTRICOS



Presencia de agregados plaquetarios, satelitismo y macroplaquetas en pacientes con recuentos normales o altos



Trombocitopenia en adultos

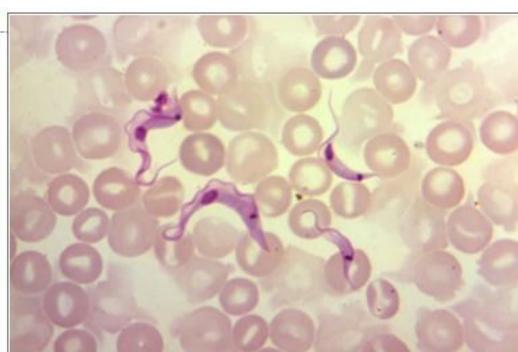


12. Morfología de hemoparásitos.

También es importante reportar la presencia de hemoparásitos como son:

. Trypanosoma cruzi

La enfermedad de Chagas es una infección por *Trypanosoma cruzi*, transmitida por la picadura de insectos Triatominae o, con menor frecuencia, por ingestión de zumo de caña de azúcar o alimentos contaminados con dichos insectos infectados o sus heces, mediante transfusión de sangre o un trasplante de órgano de un donante infectado, o por transmisión materno-fetal. Los síntomas después de una mordedura de triatomíneos comienzan en forma típica con una lesión cutánea o con edema periorbitario unilateral, que luego se agrava debido a la aparición de fiebre, malestar general, adenopatías generalizadas y hepatosplenomegalia; años más tarde, entre el 20 y el 30% de los pacientes infectados desarrollan arritmias, miocardiopatía crónica o, con menor frecuencia, megaesófago o megacolon.



. Leishmania sp

La leishmaniasis es una enfermedad causada por protozoos parásitos del género *Leishmania* y se caracteriza por presentar una variedad clínica y epidemiológica en relación con las especies involucradas en la infección, los vectores transmisores, así como factores ligados al hospedero.

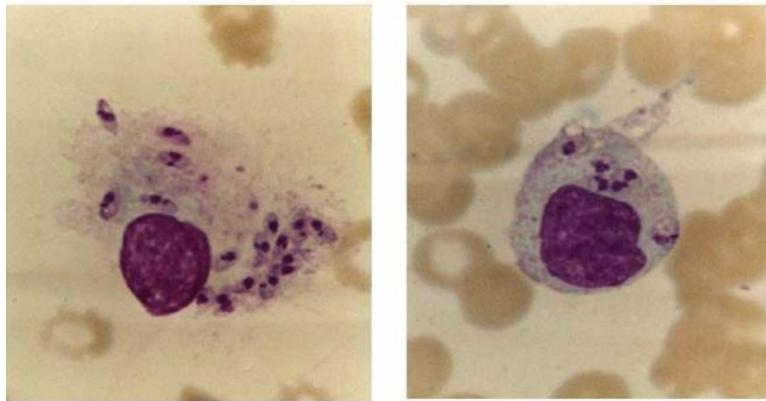
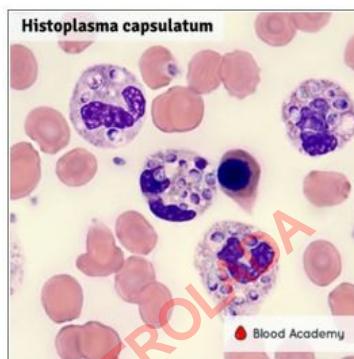


Figura 1. Parásitos de *Leishmania* sp. en frotis de sangre periférica. Wright 1000X.

Histoplasma sp

El *H. capsulatum* es un hongo dimorfo que prolifera como moho en la naturaleza o en cultivo a temperatura ambiente, pero se convierte en una pequeña célula de levadura (entre 1 y 5 micrómetros de diámetro) a 37° C y cuando invade las células de un huésped. La infección se produce tras la inhalación de conidios (esporas producidos por la forma micelio del hongo) presentes en el suelo o el polvo contaminado con deposiciones de aves o murciélagos. El riesgo de infección es mayor cuando la tala de árboles o la destrucción de edificios genera esporas en el aire (p. ej., en sitios de construcción en áreas habitadas por pájaros o murciélagos) o al explorar cuevas.



13. Consultoria para revisión de extendidos de sangre periférica

Se envía para consultoría a la universidad de Antioquia al laboratorio de Hematología, con carta solicitando lectura de placa; esta debe incluir los siguientes datos del paciente: Nombre completo y apellidos, edad, número de historia clínica, cédula, impresión diagnóstica. Además de los datos del paciente se debe enviar correo electrónico donde se deben reportar los resultados.

Se debe adjuntar resultado impreso del equipo de hematología, dos placas coloreadas y dos placas sin colorear.

Cuando se reciba el resultado se debe imprimir para hacer el reporte en el sistema de información del laboratorio con la nota de que fue realizado por consultoría en la Universidad de Antioquia. Este resultado además se utiliza para hacer una retroalimentación a los bacteriólogos de ambas sedes y se archiva en carpeta marcada consultoría. El extendido de sangre periférica coloreado se guarda en la caja de placas de colección.

14. Bibliografía

Dacie y Lewis Hematología practica 10º edición 2008 ; Interpretación clínica del laboratorio Gilberto Ángel M y Mauricio Ángel R. 5ta edición.

L Palmer, C Briggs, S McFadden, G ZiniL. J. Burthem, G. Rozenberg M. Proytcheva, S. J. Machin. 2015. ICSH recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphological features

Si este documento se encuentra impreso no se garantiza su vigencia, por lo tanto es copia NO CONTROLADA, la versión actual se encuentra en Isolución

VERSION	FECHA	RAZON DE LA ACTUALIZACION
02	28/Jul/2009	Se cambia volumen de reactivo de Wright de 1.5 ml a 1.0 ml. Se anexa pautas para realizar extendidos de sangre periférica.
03	04/Oct/2010	Se cambia la palabra Winlab por sistema de información.
03	11/Oct/2013	Se revisa el documento y no es necesario realizar cambios.
03	15/Ene/2015	Se revisa el instructivo y no es necesario modificarlo.
03	05/Ene/2016	Se revisa y no se modifica.
04	12/Ene/2016	Se adiciona consultoría para revisión de extendido de sangre periférica.
04	17/Feb/2017	Se revisa y no se modifica.
05	01/Ago/2017	Se adiciona reporte de morfología celular en el extendido de sangre periférica. Se actualiza la bibliografía.
06	13/Feb/2020	Se complementa el numeral 4, se cambia numeral 6 como evaluar el extendido. Se adiciona morfología de eritrocitos, morfología de leucocitos, morfología de plaquetas y algoritmos.
06	12/Ene/2021	Se revisa y no se modifica.
06	17/Ene/2022	Se revisa y no se modifica.
06	03/Ene/2023	Se revisa y no se modifica.
06	09/Ene/2024	Se revisa y no se modifica.
07	30/Jul/2024	Se adiciona morfología de los parásitos.



ELABORÓ	REVISÓ	APROBO
Nombre: Yulime Andrea Monsalve Martinez Cargo: Dirección de Calidad Fecha: 30/Jul/2024	Nombre: Xiomara Gutierrez Cargo: Bacteriólogo(a) de Hematología Tesoro Fecha: 30/Jul/2024	Nombre: Carlos Gonzalo Robledo Restrepo Cargo: Director General Fecha: 31/Jul/2024

COPIA CONTROLADA