

# Interpretación del hemograma automatizado: claves para una mejor utilización de la prueba

## Interpretation of automated complete blood count: keys to a better application of the test

Germán Campuzano Maya, MD<sup>1</sup>

*“La sangre es pura y elocuente”*

Maxwell Wintrobe (1901-1986), considerado el padre de la hematología moderna

**Resumen:** el hemograma es una de las pruebas que más se solicita al laboratorio clínico y, sin duda, una de las que más aporta al clínico en la evaluación del paciente. Desde el punto de vista técnico, se reconocen seis tipos de hemograma y el tipo VI es el que ofrece mayor cantidad de parámetros de utilidad clínica, los cuales se obtienen a partir de una amplia combinación de tecnologías, como el enfoque hidrodinámico y la citometría de flujo. En este módulo se describen los parámetros que componen el hemograma tipo VI, la utilidad clínica, los valores de referencia y algunos aspectos que se deben tener en cuenta al interpretar los resultados y tomar decisiones médicas; además, se hace énfasis en los nuevos parámetros disponibles en el hemograma tipo VI, como el recuento de reticulocitos y los índices derivados, el recuento de granulocitos inmaduros y de plaquetas reticuladas, entre otros, los cuales son parámetros de gran utilidad en diferentes escenarios clínicos y hacen que este hemograma sea el de elección para la práctica médica actual.

**Palabras clave:** pruebas hematológicas, recuento de células sanguíneas, índices de eritrocitos, recuento de reticulocitos, recuento total de leucocitos, valores de referencia.

**Abstract:** the complete blood count (CBC) is one of the most requested tests in the clinical laboratory, and without a doubt, it is one of the tests that provides some of the most useful information for physicians taking care of patients. From a technical perspective, there are six types of complete blood counts, and the type-VI CBC offers the greatest amount of useful parameters, which are obtained using different technologies integrated into a single platform, including hydrodynamic focusing and flow cytometry. In this review article, the parameters included in the complete blood count are described, including their clinical usefulness, reference ranges and other issues that should be taken into account during the time of analyzing the results and during the entire medical decision-making process. In addition, the new parameters available with the type-VI CBC are emphasized, for example the reticulocyte count and derived parameters, immature granulocytes count, and immature platelet count, among others, which are extremely useful in different clinical scenarios and make the type-VI CBC of choice for current medical practice standards.

**Key words:** hematologic tests, blood cell count, erythrocyte indices, reticulocyte count, leukocyte count, reference values

**Campuzano-Maya G.** Interpretación del hemograma automatizado: claves para una mejor utilización de la prueba. *Medicina & Laboratorio* 2013; 19: 11-68.

<sup>1</sup> Médico especialista en Hematología y Patología clínica. Docente, Ad Honorem, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Médico director, Laboratorio Clínico Hematológico. Correspondencia: Carrera 43c No. 5-33, Medellín, Colombia. E-mail: gcm@lch.co.

Conflicto de intereses: el autor declara que no tiene conflicto de intereses.

*Medicina & Laboratorio* 2013; 19: 11-68.

Módulo 1 (La clínica y el laboratorio), número 96. Editora Médica Colombiana S.A. 2013®.

Recibido el 10 de enero de 2013; aprobado el 1 de febrero de 2013.

El hemograma, también conocido como cuadro hemático, biometría hemática, recuento de células sanguíneas, CBC (por su significado en inglés *Complete Blood Count*, o BCC por *Blood Cell Count*), es una de las pruebas más solicitadas al laboratorio clínico y uno de los estudios que mayor información aporta al médico sobre la homeostasis de un individuo [1-3]. A través del tiempo, el hemograma ha sido objeto de múltiples modificaciones en cuanto a los parámetros que lo componen, la forma de obtenerlos, los grados de precisión y de exactitud, y la manera de interpretarlo.

Con respecto al hemograma, hay una situación que no se conoce o si se conoce se le da poca o ninguna importancia. Para el médico, para el paciente o para la institución de salud que hace uso de los servicios de los laboratorios clínicos, usualmente pasa desapercibido el alto grado de variabilidad en el contenido y en la calidad de los parámetros que bajo esta denominación se agrupan, cuando la realidad es otra: el hemograma, a pesar del alto grado de automatización, depende de los principios de medición que empleen los autoanalizadores, la estabilidad de la muestra y el control de calidad [4]; además, la prueba depende del bacteriólogo que la ejecute y revise el extendido de sangre periférica, como también depende del médico, quien lo interpreta con base en sus conocimientos y experiencia.

El objetivo de este módulo es presentar a la comunidad médica, usuaria de la prueba, y a los profesionales del laboratorio clínico, responsables del hemograma automatizado con sus respectivos parámetros e índices analíticos, algunos de los aspectos más relevantes en la interpretación clínica de cada uno de los parámetros que lo constituyen, teniendo en cuenta tanto las indicaciones como las limitaciones de cada uno de los parámetros informados. Es así, como a través de este módulo, se les dan al clínico y a los profesionales de laboratorio las herramientas básicas para la interpretación y el buen uso de la prueba.

## Definición y clasificación de los hemogramas

El hemograma, más que una prueba de laboratorio como tal, por ejemplo la creatinina, es un perfil, ya que bajo este nombre se agrupa una serie de parámetros que evalúan la integridad cuantitativa y cualitativa de los elementos celulares presente en sangre: los eritrocitos, los leucocitos y las plaquetas.

Desde el punto de vista del desarrollo tecnológico, acorde con la época y la disponibilidad de los laboratorios clínicos, el hemograma puede estar compuesto por unos pocos parámetros determinados por métodos manuales, que corresponde al hemograma tipo I de la Sociedad Colombiana de Patología Clínica [5] y del Ministerio de Protección Social de Colombia [6], hasta por más de 30 parámetros, como el hemograma tipo VI de la Sociedad Colombiana de Patología Clínica [5], que se obtienen con los autoanalizadores de hematología de última generación [7], como el autoanalizador de hematología Sysmex XE-2100®, que ofrece hemogramas con alto grado de precisión, exactitud y, sobre todo, de gran utilidad clínica [8]. De acuerdo con la tecnología utilizada, los parámetros incluidos, la codificación y las definiciones de la Sociedad Colombiana de Patología Clínica, en Colombia es posible hacer seis tipos de hemograma, como se resume en la [tabla 1](#) [9], los cuales se definen de acuerdo con los parámetros que los componen y las condiciones instrumentales para obtenerlos.

A partir del hemograma tipo III, los parámetros determinados o calculados, se obtienen mediante autoanalizadores de hematología y de éstos, el hemograma tipo VI es el más com-

Tabla 1. Tipos de hemogramas de acuerdo con su tecnología y sus componentes [10]

Parámetros	Tipos de hemogramas					
	Tipo I	Tipo II	Tipo III	Tipo IV	Tipo V	Tipo VI
<b>Componentes eritrocitarios</b>						
Recuento de eritrocitos	M	M	M	M	M	M
Hemoglobina	M	M	M	M	M	M
Hematocrito	M	M	C	C	C	C
Volumen corpuscular medio	C	C	M	M	M	M
Hemoglobina corpuscular media	C	C	C	C	C	C
Concentración media de la hemoglobina corpuscular	C	C	C	C	C	C
Ancho de distribución de los eritrocitos				C	C	C
Recuento de reticulocitos						M
Fracción de reticulocitos inmaduros						M
Hemoglobina reticulocitaria						M
Recuento de eritroblastos circulantes						M
<b>Componentes leucocitarios</b>						
Recuento total de leucocitos	M	M	M	M	M	M
Recuento diferencial de leucocitos	M	M	M	M	M	M
Recuento de granulocitos inmaduros						M
Malaria						M
<b>Componentes plaquetarios</b>						
Recuento de plaquetas		M	M	M	M	M
Volumen medio plaquetario				M	M	M
Plaquetocrito				C	C	C
Ancho de distribución de las plaquetas				C	C	C
Fracción de plaquetas inmaduras						M
Convenciones: M: medición directa; C: derivado de un cálculo						

pleto, ya que se compone de hemoglobina, hematocrito, recuento de eritrocitos, índices eritrocitarios (volumen corpuscular medio, hemoglobina corpuscular media, concentración media de la hemoglobina corpuscular), ancho de distribución de los eritrocitos, recuento de reticulocitos, fracción de reticulocitos inmaduros, hemoglobina reticulocitaria, recuento total de leucocitos, recuento diferencial de leucocitos, recuento de plaquetas, índices plaquetarios (volumen medio plaquetario, ancho de distribución de las plaquetas, plaquetocrito y porcentaje de plaquetas de tamaño grande) y plaquetas reticuladas por métodos electrónicos. Además, incluye la morfología de sangre periférica por métodos electrónicos y manuales. En ninguno de los hemogramas se incluye eritrosedimentación [9] por falta de utilidad clínica [11], a pesar que se continúa solicitando con relativa frecuencia.

Como se ha expresado, en este módulo solo se abordarán los aspectos de interpretación que el médico debe conocer sobre los parámetros que le entrega cada tipo de hemograma y que el bacteriólogo debe conocer para una correlación con el extendido de sangre periférica, dejando los aspectos técnicos para que sean consultados en otros módulos que en el pasado se publicaron en MEDICINA & LABORATORIO [10, 12-18]. Para alcanzar los objetivos, el módulo se subdividirá en tres subtítulos: eritrograma para los parámetros eritrocitarios, leucograma para los parámetros leucocitarios y trombograma para los parámetros plaquetarios.

**Aclaración:** debido a que los hemogramas son dependiente del instrumento y marca y los parámetros que los componen varían de un instrumento a otro instrumento, si bien tienen un significado similar, no necesariamente son idénticos entre los autoanalizadores [4, 19]. En este módulo, excepto en los casos en que se haga salvedad, siempre se hará referencia al autoanalizador de hematología Sysmex XE-2100® adecuado para hacer hemogramas tipo VI, e instalado en el Laboratorio Clínico Hematológico en Medellín, Colombia. Queda absolutamente claro que los valores de referencia aquí consignados solo se pueden aplicar a los resultados obtenidos con este instrumento y para los hemogramas realizados en el citado laboratorio clínico, pues cada laboratorio debe definir sus valores de referencia de acuerdo con la población, la instrumentación, los factores que pueden modificar el valor esperado de los parámetros de un lugar a otro, de una institución a otra y de un instrumento a otro, y demás consideraciones que puedan estar asociadas con la validez de los resultados [20]; por ello, no deben ser una copia interlaboratorios, como frecuentemente se hace en el medio.

## Eritrograma

El eritrograma es la sección del hemograma que evalúa el *eritrón*, órgano difuso que abarca entre 25 y 30 mil millones de eritrocitos circulantes y el tejido eritropoyético de la médula ósea que les da su origen [10]. El eritrograma está compuesto por parámetros básicos presentes en todos los hemogramas y por nuevos parámetros, derivados de la incorporación de los autoanalizadores de hematología al laboratorio clínico. A continuación, se analizará cada uno de los parámetros que componen el eritrograma.

### Parámetros básicos del eritrograma

Los parámetros básicos del eritrograma, independiente del tipo de hemograma y del método utilizado para obtenerlo, son aquellos que deben estar presentes en todos los hemogramas: el recuento de eritrocitos, el hematocrito, la hemoglobina y los índices eritrocitarios. El estudio de la morfología de los eritrocitos en el extendido de sangre periférica también hace parte integral del eritrograma [10].

#### ■ Recuento de eritrocitos

El recuento de eritrocitos corresponde a la cantidad de eritrocitos presentes en sangre periférica por unidad de volumen de sangre, que usualmente es el microlitro ( $\mu\text{L}$ ). El recuento de eritrocitos, en los hemogramas tipo I y II solo se puede hacer por el método manual, que característicamente, tiene un pésimo coeficiente de variación (error en el resultado), que en

el mejor de los casos oscila entre el 11% y el 22% [21]. A partir del hemograma tipo III y hasta el hemograma tipo V, el recuento de eritrocitos se recuperó gracias a la incorporación de la impedancia eléctrica o principio de Coulter [22], y del enfoque hidrodinámico en algunos autoanalizadores de hematología de última generación, como el Sysmex XE-2100®, para los hemogramas tipo VI [23], siendo esta última tecnología la que provee recuentos más exactos al eliminar la “coincidencia” celular. Estas tecnologías fueron revisadas en un artículo previamente publicado [10].

## Valores de referencia

En la [tabla 2](#) se presentan los valores de referencia para el recuento de eritrocitos, a título informativo, en una entidad privada de Medellín, Colombia [24], ya que cada laboratorio clínico debe definir sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población, la instrumentación, los factores que pueden modificar el valor esperado de un lugar a otro, de una institución a otra y de un instrumento a otro y otras consideraciones que puedan estar asociadas con la validez de resultado [20].

**Tabla 2. Valores de referencia para el recuento de eritrocitos en una entidad privada de Medellín, Colombia [24]**

Población	Valores de referencia (millones por $\mu\text{L}$ )
1 a 15 días, ambos géneros	6,5 a 7,3
16 a 31 días, ambos géneros	4,3 a 5,2
1 a 12 meses, ambos géneros	4,1 a 5,1
1 a 5 años, ambos géneros	4,2 a 5,2
6 a 14 años, ambos géneros	4,2 a 5,3
Mayores de 15 años, mujeres	4,2 a 5,4
Mayores de 15 años, hombres	4,6 a 6,2

## Utilidad clínica

A pesar de que el recuento de eritrocitos está íntimamente relacionado con la hemoglobina y con el hematocrito, no se recomienda, por poco práctico, como parámetro único para evaluar la anemia, sobre todo cuando se deriva de un método manual, por los motivos ya expresados [21]; además, puede haber anemia con eritrocitosis como puede suceder en pacientes

con talasemia, y también puede haber eritrocitopenia sin anemia como puede suceder en pacientes con policitemia rubra vera tratada con hidroxiurea, medicamento que usualmente produce macrocitosis. No obstante, el recuento de eritrocitos es indispensable para calcular la hemoglobina corpuscular media, que es la base de la clasificación morfológica de las anemias de acuerdo con lo propuesto por Wintrobe en 1932 [25] y que aún se utiliza en la práctica médica, como también es indispensable para determinar nuevos parámetros como el ancho de distribución de los eritrocitos y para calcular el hematocrito en los hemogramas electrónicos tipo III a VI [10].

## Observaciones adicionales

El recuento de eritrocitos por métodos electrónicos tiene un coeficiente de variación inferior a 1% en la mayoría de los autoanalizadores de hematología disponibles en el mercado y por lo tanto el parámetro es absolutamente confiable con esta tecnología [26]. Sin embargo, es importante agregar que los excelentes indicadores analíticos de los autoanalizadores de hematología se pueden afectar gravemente con resultados espurios, disminuidos o elevados, cuando los reactivos que se utilizan no son los adecuados para el instrumento, por ejemplo, cuando se utilizan reactivos “caseros” o “adaptados” de una marca para otra marca

o los llamados “reactivos universales” [26], que con el argumento de reducir los costos, por falta de presupuesto o por falta de cultura de la calidad, no se llevan programas de control de calidad acordes con las necesidades de esta tecnología, como infortunadamente sucede en nuestro medio con relativa frecuencia. A continuación, se mencionan las principales causas de resultados espurios en el recuento de eritrocitos.

### *Seudoeritrocitosis*

Puede haber un falso aumento de eritrocitos (seudoeritrocitosis) en las siguientes situaciones:

- Cuando hay una leucocitosis severa, por ejemplo en pacientes con leucemia linfocítica crónica, en cuyo caso los linfocitos pueden ser contados erróneamente como eritrocitos, sobre todo cuando se utiliza métodos de impedancia eléctrica como sucede en los hemogramas tipo IV y V, mientras que es menos frecuente en los hemogramas tipo VI que utilizan, para el recuento de eritrocitos, el enfoque hidrodinámico [27].
- Cuando hay plaquetas gigantes, como en el síndrome de Bernard-Soulier en el cual el contador “confunde” las plaquetas gigantes con eritrocitos, al tener tamaños muy similares entre ellos, especialmente cuando el contador utiliza impedancia para hacer los recuentos que, similar al caso anterior, se minimiza cuando se utiliza el enfoque hidrodinámico, como en hemograma tipo VI del autoanalizador de hematología Sysmex XE-2100® [27].
- Cuando hay criofibrinógeno, que al formar precipitados pueden ser contados por el instrumento como eritrocitos [14].

La seudoeritrocitosis, independiente de la causa con la cual puede estar asociada, tiene repercusión en otros parámetros relacionados con el recuento de eritrocitos, como son el volumen corpuscular medio, el hematocrito, el ancho de distribución de los eritrocitos y la hemoglobina corpuscular media [14, 27].

### *Seudoeritrocitemia*

Puede haber una falsa disminución de eritrocitos (seudoeritrocitemia), siendo esta situación mucho menos frecuente que la seudoeritrocitosis, en situaciones como:

- Cuando hay crioglobulinas, anticuerpos fríos (crioaglutininas), anticuerpos calientes o anticuerpos dependientes del anticoagulante utilizado, usualmente el EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) [14, 27].
- La presencia de eritrocitos muy pequeños, alrededor de 35 y 40 fL y fragmentos eritrocitarios como los que pueden presentarse en pacientes con talasemia puede producir un recuento de eritrocitos más bajo que el real y estas células ser contadas como plaquetas, las cuales pueden mostrarse falsamente elevadas, en particular con los hemogramas tipo III a V y en menor proporción en los hemogramas tipo VI [28].
- Algunos deportistas, especialmente los corredores de fondo, debido a un fenómeno de hemodilución, pueden presentar niveles más bajos de eritrocitos, hemoglobina y hematocrito que el que realmente tienen, cambios que puede llegar hasta el 20% [29, 30]. Los

valores de estos parámetros se normalizan seis días después del episodio de ejercicio prolongado [29, 30].

Como en el caso de la pseudopolicitemia, la pseudoeritrocitemia también afecta el volumen corpuscular medio, el hematocrito, el ancho de distribución de los eritrocitos y la hemoglobina corpuscular media [14, 27].

## ■ Hematocrito

El hematocrito corresponde a la proporción del volumen sanguíneo que es ocupado por los eritrocitos, expresado en porcentaje o una fracción decimal de esta [3]. En los hemogramas manuales tipo I y II, el hematocrito se obtiene como una medición directa a partir de centrifugación [10]. En los hemogramas tipos III a VI, el hematocrito, también conocido como “hematocrito electrónico” o “hematocrito verdadero”, es un parámetro que se deriva de la relación entre el recuento de eritrocitos y el volumen corpuscular medio, la cual se calcula automáticamente por el instrumento [10]. Por su parte, en algunos hemogramas tipo VI, como los que se obtienen con el Sysmex XE-2100®, para dar mayor confiabilidad al parámetro, el hematocrito no se deriva de una fórmula, sino que se determina a partir de la suma de los volúmenes medios corpusculares de los eritrocitos contados en cada evento, en promedio 70.000 células por duplicado por hemograma [4, 31] y en consecuencia, el hematocrito obtenido por este método es más exacto que el de los hemogramas tipos III a V.

### Valores de referencia

En la [tabla 3](#) se presentan los valores de referencia para el hematocrito, a título informativo, en una entidad privada de Medellín, Colombia [24], ya que cada laboratorio clínico debe definir sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población, la instrumentación, los factores que pueden modificar el valor esperado de un lugar a otro, de una institución a otra y de un instrumento a otro y otras consideraciones que puedan estar asociadas con la validez de resultado [20].

**Tabla 3. Valores de referencia para el hematocrito en una entidad privada de Medellín, Colombia [24]**

Población	Valores de referencia (%)
1 a 15 días, ambos géneros	44,0 a 64,0
16 a 31 días, ambos géneros	45,0 a 50,0
1 a 12 meses, ambos géneros	34,0 a 38,0
1 a 5 años, ambos géneros	33,0 a 41,0
6 a 14 años, ambos géneros	34,0 a 43,0
Mayores de 15 años, mujeres	38,0 a 48,0
Mayores de 15 años, hombres	40,0 a 54,0

### Utilidad clínica

El hematocrito es un criterio indispensable para definir el concepto de poliglobulia, un aumento de la masa de eritrocitos con respecto al valor de referencia para la edad, el sexo y la altura sobre el nivel del mar, o cuando el hematocrito está por encima de 55% en mujeres y 60% en hombres y el recuento de eritrocitos está por encima de 6 millones por  $\mu\text{L}$

[32]. Además, el hematocrito se relaciona directamente con el recuento de eritrocitos y con la hemoglobina, por lo que su medida constituye un procedimiento adicional para el diagnóstico de anemia, particularmente útil en el banco de sangre para la clasificación y la selección de donantes. De igual manera, el hematocrito se requiere para calcular algunos

índices eritrocitarios, como el volumen medio corpuscular en los hemogramas manuales y la concentración media de la hemoglobina corpuscular en todos los tipos de hemogramas [10].

## Observaciones adicionales

En general, el hematocrito electrónico es 2% a 3% menor que el hematocrito obtenido por métodos manuales basados en centrifugación, debido a que en el electrónico se calcula o se suman los volúmenes medios corpusculares y por lo tanto, no hay “plasma atrapado” entre los eritrocitos [33], que irremediamente queda atrapado entre los eritrocitos en el hematocrito por centrifugación en los hemogramas manuales tipo I y II [10].

Es importante enfatizar que el hematocrito refleja la concentración de los eritrocitos, pero no la masa total de estos. El verdadero valor del hematocrito para la detección de anemia depende en gran medida de que el volumen plasmático sea real; así, un descenso del volumen plasmático (por ejemplo cuando hay hemoconcentración) como el que se observa en casos de deshidratación, se traducirá en un aumento relativo del hematocrito y de la hemoglobina, en tanto que un aumento del volumen plasmático (hemodilución) producirá una falsa disminución del hematocrito y de la hemoglobina, resultando en un posible diagnóstico erróneo de anemia [14]. También se debe recordar que cuando el hematocrito se hace con sangre obtenida por punción capilar, puede ser un poco mayor al hematocrito de sangre obtenida por punción venosa [3]. Por otra parte, cuando en la muestra que se está analizando hay crioaglutininas o la muestra se coagula parcialmente, independiente de la causa, se pierde la relación del hematocrito con la hemoglobina.

En los hemogramas III a VI, se obtiene un resultado erróneo del hematocrito cuando hay un falso aumento o disminución del volumen medio corpuscular [27], como se discutirá posteriormente, y también cuando hay pseudoeritrocitosis o pseudoeritrocitopenia en los hemogramas tipo III a V. Cuando el hematocrito se afecta, los índices eritrocitarios que de él dependen, como el volumen corpuscular medio y la concentración media de la hemoglobina corpuscular, punto de partida de la clasificación morfológica de las anemias según Wintrobe [34], se pueden ver seriamente afectados y, en consecuencia, la clasificación morfológica de la anemia puede ser inadecuada y el paciente ser sometido a procedimientos y exámenes complementarios innecesarios.

## ■ Hemoglobina

La hemoglobina es una proteína especializada en el transporte de oxígeno desde los pulmones hacia los tejidos y de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) desde los tejidos hacia los pulmones. En los hemogramas manuales y en la mayoría de hemogramas electrónicos, la hemoglobina se mide por el método de la cianometahemoglobina (solución de Drabkin), una sustancia tóxica para los profesionales que hacen las pruebas y contaminante para el ambiente. Por ello, se han desarrollado métodos alternativos para medir la hemoglobina a partir de reactivos libres de cianuro [35]; por ejemplo, en los autoanalizadores de hematología de última generación como en el Sysmex XE-2100® y otros modelos de Sysmex, la cianometahemoglobina se ha reemplazado por lauril sulfato de sodio, que no es tóxico para el operador del instrumento y que no contamina el ambiente [36]; además, el método de lauril sulfato de

sodio presenta menor interferencia que la cianometahemoglobina en muestras lipémicas, ictéricas, con hiperleucocitosis o con la presencia de proteínas anormales.

**Tabla 4. Valores de referencia para la hemoglobina en una entidad privada de Medellín, Colombia [24]**

Población	Valores de referencia (g/dL)
1 a 15 días, ambos géneros	16,2 a 24,0
16 a 31 días, ambos géneros	14,0 a 17,0
1 a 12 meses, ambos géneros	9,0 a 14,6
1 a 5 años, ambos géneros	9,6 a 15,5
6 a 14 años, ambos géneros	10,0 a 15,5
Mayores de 15 años, mujeres	12,0 a 16,0
Mayores de 15 años, hombres	13,5 a 18,0

## Valores de referencia

En la [tabla 4](#) se presentan los valores de referencia para la hemoglobina, a título informativo, en una entidad privada de Medellín, Colombia [24], ya que cada laboratorio clínico debe definir sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población, la instrumentación, los factores que pueden modificar el valor esperado de un lugar a otro, de una institución a otra y de un instrumento a otro y

otras consideraciones que puedan estar asociadas con la validez de resultado [20].

## Utilidad clínica

La hemoglobina define los conceptos de anemia y policitemia, cuando está por debajo o por encima del valor esperado de acuerdo con la edad, el género y la altura sobre el nivel del mar [10]. La definición de anemia también se puede establecer según los criterios de la Organización Mundial de la Salud [37, 38]:

- Niños de 6 a 59 meses: hemoglobina menor que 11,0 g/dL
- Niños de 5 a 11 años: hemoglobina menor que 11,5 g/dL
- Niños de 12 a 14 años: hemoglobina menor que 12 g/dL
- Mujeres: hemoglobina menor que 12 g/dL
- Mujeres gestantes: hemoglobina menor que 11,0 g/dL
- Hombres: hemoglobina menor que 13 g/dL

Además, la hemoglobina es indispensable para calcular la hemoglobina corpuscular media y la concentración media de la hemoglobina corpuscular en todos los hemogramas [10].

## Observaciones adicionales

La concentración hemoglobina puede tener resultados falsamente elevados o falsamente disminuidos en algunas situaciones, como se verá a continuación. Se debe tener en cuenta que los resultados espurios de la hemoglobina también afectan la hemoglobina corpuscular media y la concentración media de la hemoglobina corpuscular, las cuales pueden estar falsamente elevadas o falsamente disminuidas, según el caso [14].

### Seudopolicitemia

El falso aumento de la hemoglobina (seudopolicitemia) es difícil de detectar, debido a que, técnicamente, la hemoglobina se mide en el compartimento de leucocitos y por lo tanto, en los autoanalizadores de hematología no se relaciona con los parámetros eritrocitarios. A continuación, se menciona algunas situaciones en las cuales se puede presentar seudopolicitemia.

- Las causas más frecuentes de seudopolicitemia son aquellas relacionadas con la muestra, como cuando los tubos se llenan en exceso, lo que conduce a que las células se concentren en un sitio determinado y que el contador las malinterprete. Otra causa es un mezclado deficiente de la muestra antes de pasarla por el contador de células, especialmente en algunos de los autoanalizadores de hematología que generan el hemograma tipo IV, debido a que en la mayoría de estos instrumentos, la muestra se mezcla manualmente, situación que no se presenta con los hemogramas tipo V y VI, gracias a que la mayoría de los instrumentos de esta tecnología mezclan automáticamente las muestras [10].
- En algunos autoanalizadores, un recuento elevado de leucocitos, usualmente mayor que 100.000/ $\mu\text{L}$ , puede generar un falso aumento de la hemoglobina, ya que la hiperleucocitosis genera turbidez y afecta la medición de hemoglobina, sobre todo con el uso de la cianometahemoglobina. No obstante, en los autoanalizadores Sysmex se produce una lisis de los leucocitos antes de la medición de la hemoglobina, por lo que se elimina dicha interferencia [27].
- También se ha descrito seudopolicitemia cuando la muestra es opalescente por hipertrigliceridemia [39-42], hiperbilirrubinemia [42], hemólisis severa [27], presencia de paraproteínas que pueden interferir con agentes lisantes (sustancias que destruyen los eritrocitos) de algunos contadores de células [43], aumento de carboxihemoglobina en algunos contadores [44-46] y efecto del almacenamiento de la muestra, relacionado con el EDTA [47].

### Seudoanemia

La falsa disminución de la hemoglobina (seudoanemia) es una situación que de acuerdo con la literatura médica mundial es supremamente rara, pero en nuestro medio, posiblemente por falta de mantenimiento o de controles de calidad, es relativamente frecuente la interconsulta con el hematólogo en pacientes que presentan pseudoanemia, situación que se resuelve con un buen hemograma [48]. Además, también se puede presentar pseudoanemia cuando en la sangre que se analiza hay sulfahemoglobina, situación que se puede dar en pacientes que reciben sulfonamidas, acetanilidina y otras aminas aromáticas [48].

## ■ Índices eritrocitarios

También conocidos como índices corpusculares o índices corpusculares de Wintrobe, fueron descritos por Wintrobe en 1932 [25] y se han utilizado por muchos años como punto de partida para la clasificación morfológica de las anemias [34]. Independiente del tipo de hemograma, los índices eritrocitarios incluyen el volumen corpuscular medio, la hemoglobina corpuscular media y la concentración media de la hemoglobina corpuscular.

## Volumen corpuscular medio

El volumen corpuscular medio determina al tamaño de los eritrocitos expresado en femtolitros (fL), como unidad de volumen, equivalente a  $10^{-15}$  L. En los hemogramas automatizados, el volumen corpuscular medio es el resultado de la medición directa, uno a uno, de un número importante de eritrocitos, alrededor de 70.000 células por duplicado [10], cantidad que varía según el autoanalizador que se utilice.

### Valores de referencia

En la [tabla 5](#) se presentan los valores de referencia para el volumen corpuscular medio, a título informativo, en una entidad privada de Medellín, Colombia [24], ya que cada laboratorio clínico debe definir sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población, la instrumentación, los factores que pueden modificar el valor esperado de un lugar a otro, de una institución a otra y de un instrumento a otro y otras consideraciones que puedan estar asociadas con la validez de resultado [20].

**Tabla 5. Valores de referencia para el volumen corpuscular medio en una entidad privada de Medellín, Colombia [24]**

Población	Valores de referencia (fL)
1 a 15 días, ambos géneros	97,0 a 119,0
16 a 31 días, ambos géneros	82,0 a 100,0
1 a 12 meses, ambos géneros	70,0 a 84,0
1 a 5 años, ambos géneros	72,0 a 88,0
6 a 14 años, ambos géneros	72,0 a 92,0
Mayores de 15 años, ambos géneros	86,0 a 96,0

### Utilidad clínica

En la práctica, el volumen corpuscular medio define los conceptos de normocitosis (eritrocitos de tamaño normal, entre 85 fL y 95 fL) microcitosis (eritrocitos de tamaño reducido, por debajo de 85 fL) y macrocitosis (eritrocitos de tamaño aumentado, por encima de 96 fL), que se relacionan con las diferentes

formas de anemia y que son el punto de partida de las clasificaciones morfológicas de Wintrobe [34] y de Bessman [49], de ahí la importancia de la calidad (exactitud y precisión) que deben tener estos parámetros.

En la práctica clínica, la principal causa de microcitosis es la ferropenia; sin embargo, otra de las causas de disminución del volumen corpuscular medio y de la concentración media de la hemoglobina corpuscular en la cual poco se piensa al momento del diagnóstico diferencial, es la deficiencia de la vitamina A [50], especialmente cuando se asocia con ferropenia [51]. En períodos de crisis en pacientes con hemoglobinopatías SS y SC, debido a procesos de deshidratación, el volumen corpuscular medio puede disminuir entre 10 fL y 15 fL [52, 53].

### Observaciones adicionales

La aplicación clínica del volumen corpuscular medio depende en gran parte del tipo de hemograma. El volumen corpuscular medio obtenido mediante métodos manuales no es confiable y tiene poca utilidad clínica, debido a que se calcula con base en el recuento manual de eritrocitos que característicamente tiene un coeficiente de variación muy alto [13, 54]. Por el contrario, en los hemogramas tipos III, IV, V y VI, especialmente en los dos últimos, el volumen corpuscular medio tiene una excelente precisión, tanto que una variación de más de 5 fL se debe considerar como un hallazgo con significado clínico, siempre que los

hemogramas se haga en el mismo laboratorio clínico y con el mismo autoanalizador de hematología [10].

A pesar de que la medición del volumen corpuscular medio por métodos electrónicos es muy exacta, vale la pena conocer algunos aspectos tecnológicos que pueden incidir en la calidad del parámetro. El volumen corpuscular medio electrónico es un poco más bajo que el establecido por métodos manuales, ya que el hematocrito en este último es mayor que en el electrónico [55]. También se debe tener presente que el volumen corpuscular medio determinado por enfoque hidrodinámico (hemograma tipo VI) tiende a ser más alto que el obtenido por impedancia eléctrica (hemogramas tipo III, IV y V) [10].

Con respecto a los resultados espurios, aparte de la alteración del volumen corpuscular medio, también se alteran el recuento de eritrocitos, el hematocrito, el ancho de distribución de los eritrocitos, la hemoglobina corpuscular media y la concentración media de la hemoglobina corpuscular [14, 56-58], particularmente en los hemogramas electrónicos. A continuación, se describen las principales causas con las cuales un resultado del volumen corpuscular medio puede estar relacionado con un resultado erróneo.

### *Seudomacroцитosis*

La falsa elevación del volumen corpuscular medio (seudomacroцитosis) se puede presentar en los siguientes casos:

- Cuando en la sangre hay un factor que induzca la aglutinación de eritrocitos y que el contador identifica como una célula única, especialmente en los hemogramas tipo IV y V que utilizan el principio de impedancia y, en menor proporción, con los hemogramas tipo VI que utilizan el enfoque hidrodinámico [14].
- En este sentido, si hay crioaglutininas, los eritrocitos aglutinados “engañan” al autoanalizador de hematología, el cual cuenta el acúmulo celular como una célula única de mayor tamaño [59], situación que eleva falsamente el volumen corpuscular, disminuye el recuento de eritrocitos y de paso afecta el hematocrito, la hemoglobina corpuscular media y la concentración media de la hemoglobina corpuscular [14].
- Cuando hay anticuerpos fríos o calientes [60-63] o panaglutininas dependientes o no del EDTA [61], como puede suceder en los pacientes con mononucleosis infecciosa [64] o en los pacientes con linfomas no Hodgkin [65].
- Cuando el paciente tiene un estado hiperosmolar, en cuyo caso los eritrocitos se “hinchan” como resultado de su estado bioquímico alterado. Ello puede suceder en pacientes diabéticos con glicemia muy alta, usualmente por encima de 600 mg/dL [56, 66-68], en pacientes con hipertrigliceridemia [56, 69] o hipernatremia [27, 70].
- Cuando hay problemas técnicos; por ejemplo, cuando la muestra se toma cerca de una venoclisis, sobre todo cuando se están pasando carbohidratos o glucosa [67]es>, como ocasionalmente se presenta en las salas de hospitalización o en los servicios de urgencias.
- Cuando el hemograma se procesa horas después de la toma de la muestra. En el caso de los hemogramas procesados en el autoanalizador Sysmex XE-2100®, si la muestra se conserva a temperatura ambiente, el volumen corpuscular medio aumenta después de

cuatro horas, y si la muestra se conserva a 4°C, el volumen corpuscular medio permanece estable durante 48 horas [71].

### Seudomicrocitosis

La falsa disminución del volumen corpuscular medio (seudomicrocitos), usualmente se presenta cuando el autoanizador de hematología es “engañado” por elementos diferentes a los eritrocitos, como:

- La presencia de precipitados relacionados con crioglobulina o criofibrinógeno [60-63, 72].
- Cuando en la sangre que se analiza, especialmente en los hemogramas tipo IV y V, hay plaquetas gigantes (como en el síndrome de Bernard-Soulier), que el contador malinterpreta como microeritrocitos y aparte de aumentar espuriamente el recuento de eritrocitos, disminuye el volumen corpuscular medio [73].

## Hemoglobina corpuscular media

La hemoglobina corpuscular media determina la cantidad de hemoglobina, en picogramos (pg) como unidad de peso, que contiene cada eritrocito en promedio [10]. Este parámetro es un valor calculado en todos los hemogramas, se obtiene mediante la aplicación de una fórmula que relaciona la hemoglobina con el recuento de eritrocitos, la cual se calcula automáticamente en los equipos de hematología.

### Valores de referencia

En la **tabla 6** se presentan los valores de referencia para la hemoglobina corpuscular media, a título informativo, en una entidad privada de Medellín, Colombia [24], ya que cada laboratorio clínico debe definir sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población, la instrumentación, los factores que pueden modificar el valor esperado de un lugar a otro, de una institución a otra y de un instrumento a otro y otras consideraciones que puedan estar asociadas con la validez de resultado [20].

**Tabla 6. Valores de referencia para la hemoglobina corpuscular media en una entidad privada de Medellín, Colombia [24]**

Población	Valores de referencia (pg)
1 a 15 días, ambos géneros	32,0 a 44,0
16 a 31 días, ambos géneros	31,0 a 39,0
1 a 12 meses, ambos géneros	22,0 a 29,0
1 a 5 años, ambos géneros	23,0 a 31,0
6 a 14 años, ambos géneros	23,0 a 31,0
Mayores de 15 años, ambos géneros	25,0 a 31,0

### Utilidad clínica

La hemoglobina corpuscular media define los conceptos de hipocromía, normocromía e hipercromía. La hemoglobina corpuscular media, combinada con el volumen corpuscular medio, permite desarrollar la clasificación morfológica de acuerdo con Wintrobe [34]. La hemoglobina corpuscular media es confiable y aplicable a la

clínica cuando se deriva de valores obtenidos mediante los autoanizadores de hematología. Además, al ser un parámetro muy estable, es una excelente herramienta para el control de calidad del hemograma [74].

### Observaciones adicionales

En los hemogramas derivados de los autoanalizadores de hematología, la hemoglobina corpuscular media es de altísima confiabilidad, debido a que el recuento electrónico de eritrocitos tiene un coeficiente de variación extremadamente bajo [75]. En relación con los resultados espurios, usualmente la hemoglobina corpuscular media se puede elevar falsamente por hiperlipidemia, ya que se produce turbidez en el plasma y se eleva falsamente la hemoglobina [41]. También se puede modificar en otras situaciones que elevan falsamente la hemoglobina, como la presencia de paraproteínas [43] y de crioglobulinas.

## Concentración media de la hemoglobina corpuscular

La concentración media de la hemoglobina corpuscular corresponde a la cantidad de hemoglobina, expresada en gramos por decilitro (g/dL), de los eritrocitos empacados. Como el parámetro anterior, la concentración media de la hemoglobina corpuscular, es un valor calculado en todos los hemogramas a partir de una relación matemática entre la hemoglobina y el hematocrito, la cual se calcula automáticamente en los equipos de hematología [10].

### Valores de referencia

En la [tabla 7](#) se presentan los valores de referencia para la concentración media de la hemoglobina corpuscular, a título informativo, en una entidad privada de Medellín, Colombia [24], ya que cada laboratorio clínico debe definir sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población, la instrumentación, los factores que pueden modificar el valor esperado de un lugar a otro, de una institución a otra y de un instrumento a otro y otras consideraciones que puedan estar asociadas con la validez de resultado [20].

**Tabla 7. Valores de referencia para la concentración media de la hemoglobina corpuscular en una entidad privada de Medellín, Colombia [24]**

Población	Valores de referencia (g/dL)
1 a 15 días, ambos géneros	34,0 a 42,0
16 a 31 días, ambos géneros	31,0 a 39,0
1 a 12 meses, ambos géneros	30,0 a 36,0
1 a 5 años, ambos géneros	31,0 a 37,0
6 a 14 años, ambos géneros	32,0 a 36,0
Mayores de 15 años, ambos géneros	32,0 a 38,0

### Utilidad clínica

La concentración media de la hemoglobina corpuscular, como la hemoglobina corpuscular media, define los conceptos de hipocromía, normocromía e hipercromía, siendo este último un concepto más hipotético que real, con algunas excepciones que se analizarán oportunamente.

La concentración media de la hemoglobina corpuscular es necesaria para la clasificación de las anemias de acuerdo con la clasificación morfológica de Wintrobe [34] (ver [tabla 8](#)) y el grado de disminución se relaciona directamente con la cantidad de células hipocrómicas que se observan en el extendido de sangre periférica, como se resume en la [tabla 9](#).

La anemia ferropénica característicamente tiene una disminución significativa de la concentración media de la hemoglobina corpuscular, pero rara vez lo está cuando el volumen corpuscular medio es normal; otras anemias que se pueden presentar con microcitosis e hipocromía son las talasemias. Es común que la concentración media de la hemoglobina

Tabla 8. Clasificación morfológica de las anemias de acuerdo con Wintrobe [34].

Tipo de anemia	Volumen corpuscular medio (fL)	Concentración media de la hemoglobina corpuscular (g/dL)
Normocítica normocrómica	80,0 a 100,0	32,0 a 36,0
Macroscítica normocrómica	Mayor que 100,0	32,0 a 36,0
Microscítica hipocrómica	Menor que 80,0	Menor que 32,0

corpuscular esté elevada en la esferocitosis hereditaria [76] y un valor mayor que 35,4 g/dL, en conjunto con un ancho de distribución de los eritrocitos mayor que 14%, tiene una sensibilidad de 63% y una especificidad de 100% como prueba de tamizaje en la población general para detectar la esferocitosis hereditaria [77].

Con excepción de la esferocitosis [76] y de algunas formas homocigotas de hemoglobinopatías S y C [52, 53], la concentración media de la hemoglobina corpuscular no “debe” exceder los 37 g/dL y, en caso que suceda, se debe cuestionar el buen funcionamiento del autoanalizador de hematología. No obstante, durante las crisis de pacientes con enfermedad de células falciformes, debidas a procesos de deshidratación, la concentración media de la hemoglobina corpuscular puede aumentar significativamente, incluso por encima de 37 g/dL [52, 53].

Al igual que la hemoglobina corpuscular media, la concentración media de la hemoglobina corpuscular es una excelente herramienta para el control de calidad del hemograma, ya que es un parámetro muy estable [74].

Tabla 9. Relación de la hipocromía en los extendidos de sangre periférica y la concentración media de la hemoglobina corpuscular

Concentración media de la hemoglobina corpuscular (g/dL)	Morfología de los eritrocitos en sangre periférica
31,5 a 35,0	Normocromía
30,0 a 31,4	Hipocromía leve (+)
29,0 a 29,9	Hipocromía moderada (++)
28,0 a 28,9	Hipocromía de moderada a acentuada (+++)
Menos de 27,9	Hipocromía severa (++++)

### Observaciones adicionales

La concentración media de la hemoglobina corpuscular que se deriva de los hemogramas electrónicos tiene un coeficiente de variación de tan solo 1% [78]. Al igual que los demás parámetros del hemograma, la concentración media de la hemoglobina corpuscular puede tener resultados falsamente elevados o falsamente disminuidos, como se discutirá a continuación:

- La concentración media de la hemoglobina corpuscular se puede elevar falsamente por hiperlipidemia, ya que se produce turbidez en el plasma y se eleva falsamente la hemoglobina [41], siendo mayor la interferencia cuando se utiliza cianometahemoglobina que lauril sulfato de sodio.
- También se puede modificar en otras situaciones que elevan la hemoglobina falsamente como la presencia de paraproteínas [43] y de crioaglutininas, situación en la que puede lograr valores tan altos como 50 g/dL.

## Nuevos parámetros del eritrograma

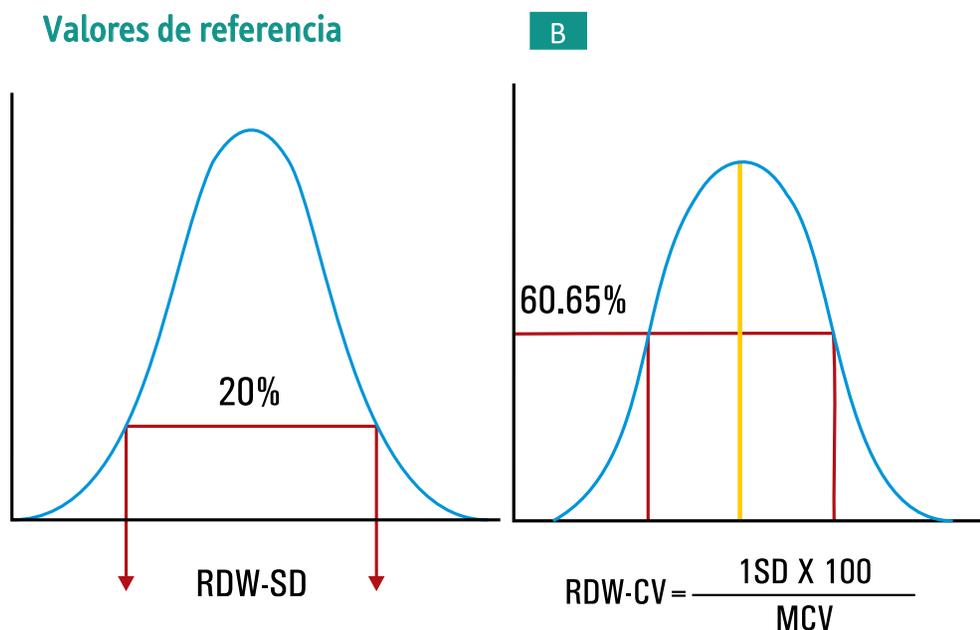
Gracias a la incorporación de autoanalizadores de hematología no y sus software especializados, no solo se han mejorado los indicadores analíticos de los parámetros básicos del eritrograma, sino que se ha ampliado el horizonte de la hematología a partir de la inclusión de nuevos parámetros de utilidad clínica, como son el ancho de distribución de los eritrocitos, el recuento de reticulocitos, la fracción de reticulocitos inmaduros y la hemoglobina reticulocitaria, entre otros.

### ■ Ancho de distribución de los eritrocitos

El ancho de distribución de los eritrocitos, también denominado índice de distribución de los eritrocitos, índice de anisocitosis o RDW (por su sigla en inglés *Red cell Distribution Width*), es un parámetro exclusivo del hemograma electrónico [5]. El ancho de distribución de los eritrocitos se calcula a partir de la altura de los pulsos que se generan cuando se realiza el recuento de eritrocitos, ya que el pulso es proporcional al volumen de los eritrocitos [26].

En la mayoría de los autoanalizadores, el ancho de distribución de los eritrocitos se expresa como la desviación estándar del volumen celular (ver figura 1-A), mientras que en los autoanalizadores Sysmex y Beckman Coulter también se expresa como el coeficiente de variación (ver figura 1-B), el cual que se deriva de una fórmula matemática en la que se relaciona la desviación estándar y el volumen corpuscular medio [26, 79-81].

#### Valores de referencia



**Figura 1.** Ancho de distribución de los eritrocitos en el hemograma tipo VI (XE 2100 de Sysmex®). A. Desviación estándar del ancho de distribución de los eritrocitos (RDW-SD), el cual se mide calculando el ancho en fL en el nivel de altura del 20% del histograma. B. Coeficiente de variación del ancho de distribución de los eritrocitos (RDW-CV), el cual se calcula a partir de la desviación estándar del ancho de distribución de los eritrocitos y el volumen corpuscular medio. Convenciones: MCV: volumen corpuscular medio. Tomado de Campuzano-Maya [10].

El valor de referencia para el coeficiente de variación del ancho de distribución de los eritrocitos, a título informativo, en una entidad privada de Medellín, Colombia [24], es de 11,5% a 15,1%. No obstante, se debe recordar que cada laboratorio clínico debe definir sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población, la instrumentación, los factores que pueden modificar el valor esperado de un lugar a otro, de una institución a otra y de un instrumento a otro y otras consideraciones que puedan estar asociadas con la validez de resultado [20].

## Utilidad clínica

Debido a que en la práctica clínica generalmente se utiliza el coeficiente de variación, la utilidad clínica del ADE se dará para este parámetro. Desde el punto de vista práctico, el ancho de distribución de los eritrocitos define los conceptos de homogeneidad y heterogeneidad de la población de eritrocitos, que se refiere a la ausencia o la presencia de anisocitosis, respectivamente.

El ancho de distribución de los eritrocitos, junto al volumen corpuscular medio, es uno de los criterios en la clasificación morfológica de las anemias según Bessman (ver [tabla 10](#)) [49], particularmente útil en el diagnóstico diferencial de la anemia ferropénica [49, 82-84], la beta talasemia menor [85] y la anemia megaloblástica [86]. En términos generales, en las anemias carenciales (deficiencia de hierro, vitamina B<sub>12</sub> o ácido fólico) el ancho de distribución de los eritrocitos es uno de los primeros parámetros que se modifica en el hemograma [10], desde mucho antes de que se den cambios en el tamaño de los eritrocitos (volumen corpuscular medio) o que la hemoglobina se reduzca a niveles anémicos [87, 88], de acuerdo con las definiciones internacionalmente aceptadas [38].

**Tabla 10. Clasificación de las anemias de acuerdo con la clasificación morfológica de Bessman. Modificado de [49]**

Volumen corpuscular medio (fL)	Ancho de distribución de los eritrocitos	
	Normal o disminuido	Aumentado
Menor que 80	Talasemia menor	Anemia por deficiencia de hierro Talasemia mayor Hemólisis, con esquistocitos
Entre 80 y 100	Normal Anemia de enfermedad crónica	Anemia de enfermedad crónica Anemia por deficiencia mixta (deficiencia de hierro más deficiencia de folato o vitamina B <sub>12</sub> ) Fase temprana de anemias nutricionales Hemoglobiopatía Síndrome mielodisplásico Enfermedad hepática crónica Anemia sideroblástica
Mayor que 100	Anemia aplástica Leucemia sin diagnosticar	Síndrome mielodisplásico Anemia megaloblástica Presencia de crioaglutininas

Por otra parte, se ha observado que el ancho de distribución de los eritrocitos es útil en el diagnóstico y el pronóstico de enfermedades no hematológicas, en especial, las enfermedades cardiovasculares [89]. Este parámetro eritrocitario se relaciona con el pronóstico de pacientes con falla cardíaca, insuficiencia cardíaca crónica, enfermedad de arterias coronarias, enfermedad arterial periférica, infarto agudo de miocardio, infarto cerebral agudo, embolismo pulmonar o hipertensión pulmonar; de hecho, se ha observado que los pacientes con un ancho de distribución de los eritrocitos elevado tienen un riesgo superior de muerte [90-101]. Además, es un predictor de supervivencia en pacientes a quienes se les realiza cirugía de puentes coronarios [102-104] y en quienes consultan a urgencias por disnea aguda [105].

También se ha observado que los pacientes hipertensos o prehipertensos tienen valores más altos del ancho de distribución de los eritrocitos, independiente de la edad, el estado inflamatorio y la concentración de hemoglobina; además, los valores más altos se correlacionan fuertemente con presión sistólica y diastólica más altas [106].

En relación con otro tipo de enfermedades, el ancho de distribución de los eritrocitos se relaciona con algunos procesos infecciosos. Por ejemplo, se relaciona con la severidad de las hepatitis virales, en especial las ocasionadas por el virus de la hepatitis B [107]. Un ancho de distribución de los eritrocitos elevado es de mal pronóstico en pacientes con bacteremia por Gram negativos [108], sepsis severa o shock séptico [109], e indica mayor probabilidad de muerte o de severidad de la enfermedad en pacientes con neumonía adquirida de la comunidad [110, 111]

Con respecto a las enfermedades de tracto gastrointestinal, el ancho de distribución de los eritrocitos tiene una sensibilidad de 84% y una especificidad de 88% para detectar el cáncer de colon, por lo que este parámetro ayudaría a identificar los pacientes que necesitan evaluación colonoscópica [112]; adicionalmente, el ancho de distribución de los eritrocitos elevado puede predecir atrofia intestinal en pacientes con enfermedad celiaca [113].

Por otra parte, un ancho de distribución de los eritrocitos elevado es un predictor de mortalidad en pacientes con pancreatitis aguda [114], con fractura de cadera [115] o con enfermedad renal aguda en terapia de remplazo renal continua [116], como también se relaciona con mayor riesgo de muerte en la población general [117, 118] y en personas de edad avanzada [118-121]; a su vez, los pacientes diabéticos con valores elevados tienen más riesgo de complicaciones microvasculares y macrovasculares [122].

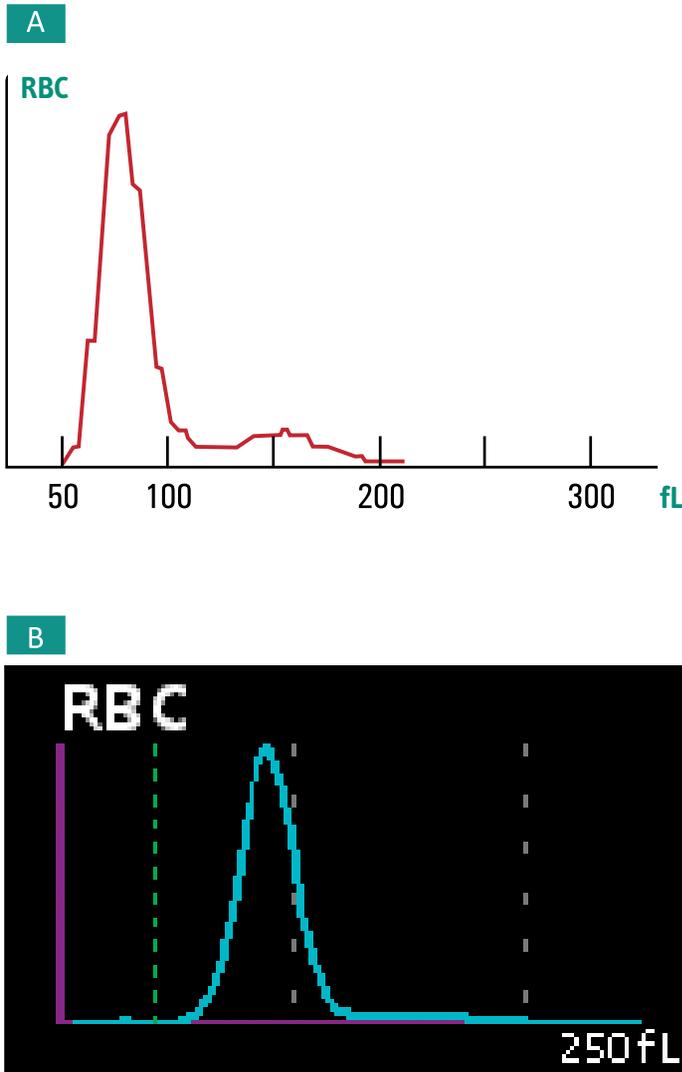
## Observaciones adicionales

El coeficiente de variación del ancho de distribución de los eritrocitos puede estar falsamente elevado o disminuido dependiendo del volumen corpuscular medio, situación que no se presenta cuando el ancho de distribución de los eritrocitos se refiere a la desviación estándar, por lo que es de importancia implementar su uso en el medio [10]. No obstante, el que internacionalmente se informa es el coeficiente de variación.

## ■ Histograma de eritrocitos

El informe de los parámetros del eritrograma se acompaña de un histograma de eritrocitos, en el que se relaciona el volumen celular en femtolitros con la cantidad de células. En condi-

ciones normales, el histograma tiene forma de campana de Gauss, conocida como “cuerpo del histograma” y en caso que el hemograma se realice en un equipo que funcione por impedancia eléctrica, al lado derecho se observa el “dedo del histograma”, como se observa en la [figura 2-A](#), que corresponde a células que pasan juntas a través de la apertura, evento conocido como “coincidencia”. Por su parte, en los hemogramas tipo VI en los que el recuento se realiza por enfoque hidrodinámico, se elimina la coincidencia celular y sólo se observa el “cuerpo del histograma”, como se muestra en las [figura 2-B](#) [10].



**Figura 2.** Histograma de eritrocitos. **A.** Histograma de un hemograma tipo V, obtenido por el principio de impedancia eléctrica. A la izquierda se observa el «cuerpo del histograma» y a la derecha el «dedo del histograma», que corresponde a células que cuenta más grandes de lo que son, debido a que pasan juntas a través de la apertura. Tomado de Campuzano-Maya [10]. **B.** Histograma de un hemograma tipo VI, obtenido por el principio de enfoque hidrodinámico. La población de células (eritrocitos) se agrupa mejor que con la impedancia eléctrica y el «dedo del histograma» desaparece, como resultado de no contar células que pasan juntas y «engañan al instrumento». Laboratorio Clínico Hematológico, Medellín, Colombia.

## Utilidad clínica

A pesar que los gráficos de distribución celular no se anexan a los informes de laboratorio, sí son de vital importancia para los profesionales del laboratorio clínico que realizan la prueba y que velan por la calidad de los resultados, teniendo en los histogramas y en el resto de información gráfica, una potente herramienta de análisis. Su interpretación orienta el estudio

del extendido de sangre periférica y por lo general las alteraciones del histograma tienen una estrecha correlación con las anomalías morfológicas de los eritrocitos. De igual forma, el histograma tiene una relación estrecha con el volumen corpuscular medio y el ancho de distribución de los eritrocitos, por lo que se espera que cuando el volumen corpuscular medio esté disminuido, el cuerpo del histograma esté desviado a la izquierda y que cuando el volumen corpuscular medio esté elevado, el cuerpo del histograma se desvíe a la derecha. De forma similar, si el ancho de distribución de los eritrocitos está elevado, se observará una base más amplia en el cuerpo del histograma [10]. En la [figura 3](#) se esquematizan algunas alteraciones del histograma de eritrocitos.

Entre las causas de un histograma desviado a la izquierda se destaca la presencia de microcitosis y en ocasiones, cuando hay una población muy desviada a la izquierda, puede corresponder a esquistocitos (células fragmentadas) o a macroplaquetas. Por su parte, un histograma desviado a la derecha se relaciona con la presencia de macrocitosis, de macrovalocitos o con resultados espurios ocasionados por crioaglutininas (ver [figura 4-A](#)). En este último caso, la alteración del histograma, del volumen corpuscular medio y demás parámetros del eritrograma, se corrige notablemente si la muestra se conserva a 37°C desde que se realiza la flebotomía hasta que se procesa en el autoanalizador (ver [figura 4-B](#)).

## ■ Recuento de reticulocitos

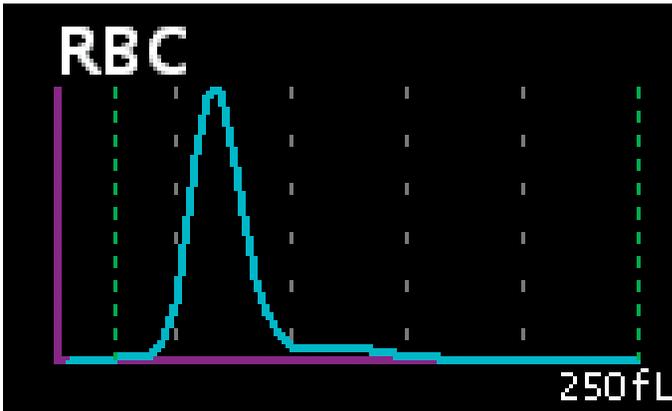
Los reticulocitos son eritrocitos jóvenes e inmaduros que a diferencia de los eritrocitos maduros, contienen ácido ribonucleico (ARN) en su citoplasma. Su estudio permite evaluar la capacidad de respuesta de la médula ósea en situaciones de anemia. En condiciones normales, son muy escasos en sangre periférica, constituyen entre el 1% y 2% de todos los eritrocitos circulantes y para su observación se requiere una coloración vital. La determinación de su índice permite clasificar las anemias como regenerativas (hay respuesta por parte de la médula ósea) o como no regenerativas, también llamadas arregenerativas (no hay respuesta medular).

Algunos equipos de hematología, en particular aquellos diseñados para hacer hemogramas tipo VI, como el Sysmex XE-2100®, utilizan colorantes fluorescentes que se unen a los ácidos nucleicos y que se pueden cuantificar por citometría de flujo. En el caso del recuento de reticulocitos, se utiliza un fluorocromo que se une al ARN de los reticulocitos; después de la unión a las células, el fluorocromo es estimulado por el rayo de luz láser y emite la señal en una longitud de onda mayor a la original y ésta es detectada por el autoanalizador. Teniendo en cuenta el tamaño celular y la fluorescencia emitida, el autoanalizador realiza el recuento total de reticulocitos y a su vez, los discrimina según el grado de maduración, de forma que permite identificar los reticulocitos más inmaduros [123], como se discutirá posteriormente.

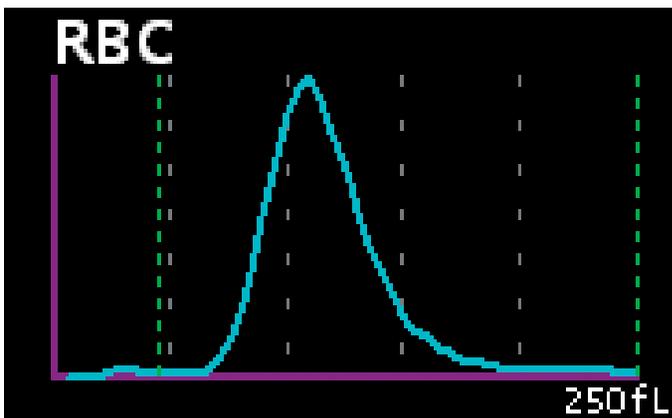
## Valores de referencia

El valor de referencia del recuento de reticulocitos por citometría de flujo, en una entidad privada de Medellín, Colombia [24], es el siguiente: valor relativo: 0,6% a 2,7%; valor absoluto: 30.000 a 70.000 por  $\mu\text{L}$ . Se debe insistir en que cada laboratorio clínico defina sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población, la instrumentación, los factores que pueden modificar el valor esperado de un lugar a otro, de una institución a otra y de

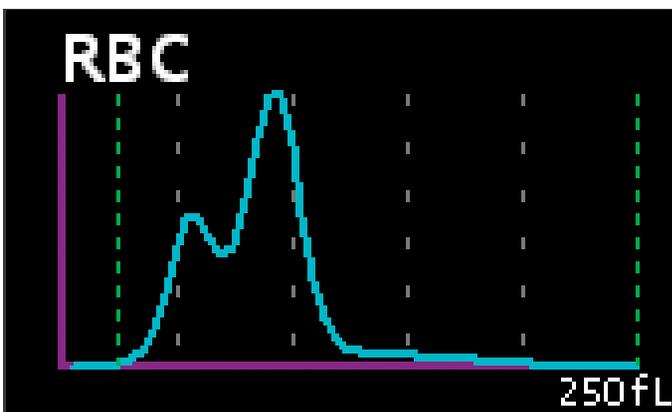
A



B



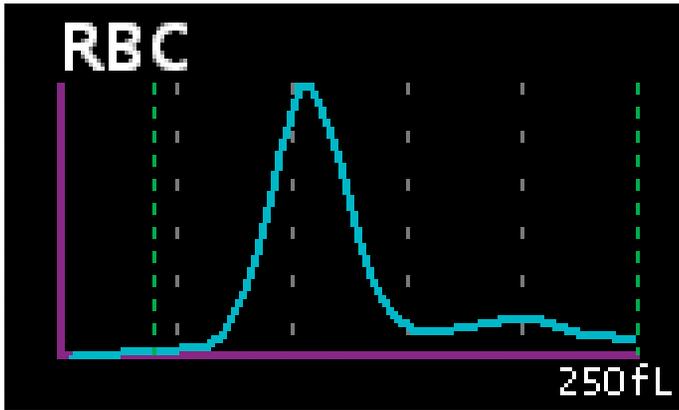
C



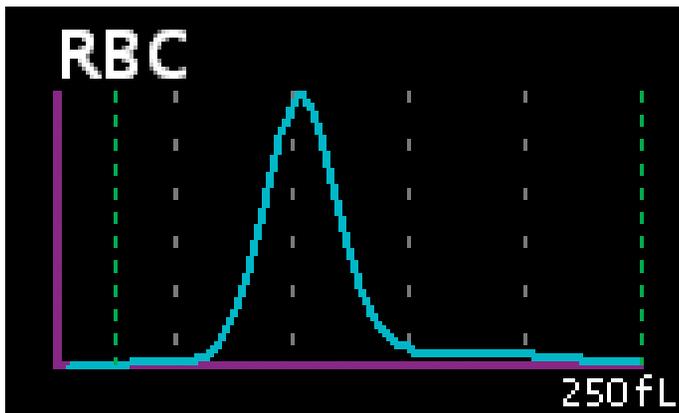
**Figura 3.** Algunas alteraciones del histograma de eritrocitos y su relación con el volumen corpuscular medio y el ancho de distribución de los eritrocitos.

**A.** Histograma de eritrocitos con población microcítica; en este caso, el volumen corpuscular medio corresponde a 68,3 fL y el ancho de distribución de los eritrocitos a 15,3%. **B.** Histograma con población macrocítica; en este caso, el volumen corpuscular medio corresponde a 114,3 fL y el ancho de distribución de los eritrocitos a 18,3%. **C.** Histograma dimórfico. En este caso, el paciente tenía una anemia ferropénica (hemoglobina 8,2 fL, Volumen corpuscular medio 62,5 fL y ferritina 1ng/mL), se trató con suplemento de hierro y tres meses después de iniciar el tratamiento, se normalizaron la hemoglobina y las constantes corpusculares (hemoglobina 13,6 g/dL, hematocrito 41%, volumen corpuscular medio 80,1 fL, concentración media de hemoglobina corpuscular 33,2 g/dL y hemoglobina reticulocitaria 32,2 pg). Como resultado del tratamiento exitoso, en el histograma de eritrocitos coexisten dos poblaciones, una correspondiente a los eritrocitos microcíticos residuales y la segunda a eritrocitos de tamaño normal. Laboratorio Clínico Hematológico. Medellín, Colombia.

A



B



**Figura 4.** Cambios en el eritrograma generados por la presencia de crioaglutininas. **A.** Debido a que las crioaglutininas inducen la aglutinación de eritrocitos a temperaturas bajas, disminuye el recuento de eritrocitos y el hematocrito, mientras que aumenta el volumen corpuscular medio, la concentración media de hemoglobina, la concentración media de la hemoglobina corpuscular y el ancho de distribución de los eritrocitos. En el histograma de eritrocitos se observa una población significativa desviada a la derecha, que corresponde a eritrocitos aglutinados. **B.** Cuando la muestra se toma en tubos previamente incubados a 37°C y la muestra se conserva a esta temperatura hasta que se procesa, disminuye notablemente la crioaglutinación y se obtienen valores del eritrograma más acertados; además, desaparece la cola del histograma de eritrocitos. Laboratorio Clínico Hematológico. Medellín, Colombia.

un instrumento a otro y otras consideraciones que puedan estar asociadas con la validez de resultado [20].

## Utilidad clínica

El recuento de reticulocitos es la prueba no invasiva más simple para evaluar la actividad eritropoyética de la médula ósea. Así, las anemias en donde hay aumento de reticulocitos (reticulocitosis) se consideran que son regenerativas, mientras que cuando están bajos (reticulocitopenia) son arregenerativas. De acuerdo con lo anterior, el recuento de reticulocitos constituye un parámetro complementario imprescindible para el estudio y la clasificación de las anemias. También es de utilidad clínica en situaciones en las cuales la médula ósea es objeto de agresión, como sucede después de la radioterapia o de la quimioterapia anti-neoplásica, ya que permite evaluar la capacidad de respuesta de la médula ósea y predice el momento de la recuperación. Los reticulocitos, especialmente la fracción de alta y media fluorescencia, al ser la primera en aparecer, es un excelente marcador de respuesta ante el trasplante de progenitores hematopoyéticos [124] y la inmunosupresión en el tratamiento de la anemia aplásica [125], entre otras indicaciones.

## Observaciones adicionales

Si bien el recuento de reticulocitos se puede realizar por métodos manuales, tienen una amplia variación entre los observadores, altos coeficientes de variación, que de acuerdo con estudios del Colegio Americano de Patólogos está alrededor del 30% a pesar de que se hagan dentro de los mejores estándares de calidad [126], y son muy laboriosos, por lo que no se recomiendan en la rutina del laboratorio clínico [10]. Por lo anterior, la prueba manual no solo ha perdido vigencia, sino que ha sido remplazada por su cuantificación automatizada, como la que se incluye en los hemogramas tipo VI de la clasificación de la Sociedad Colombiana de Patología Clínica [5] y que cuenta con mayor precisión que el recuento manual [127].

Aunque poco frecuente, se puede presentar un resultado espurio del recuento automatizado de reticulocitos. Entre las causas de un falso aumento se destaca un recuento elevado de leucocitos, situación que se puede solucionar diluyendo la muestra con una solución isotónica [128]. Por su parte, en muestras hemolíticas disminuye el recuento de reticulocitos y este efecto es proporcional al grado de hemólisis [129].

## ■ Fracción de reticulocitos inmaduros

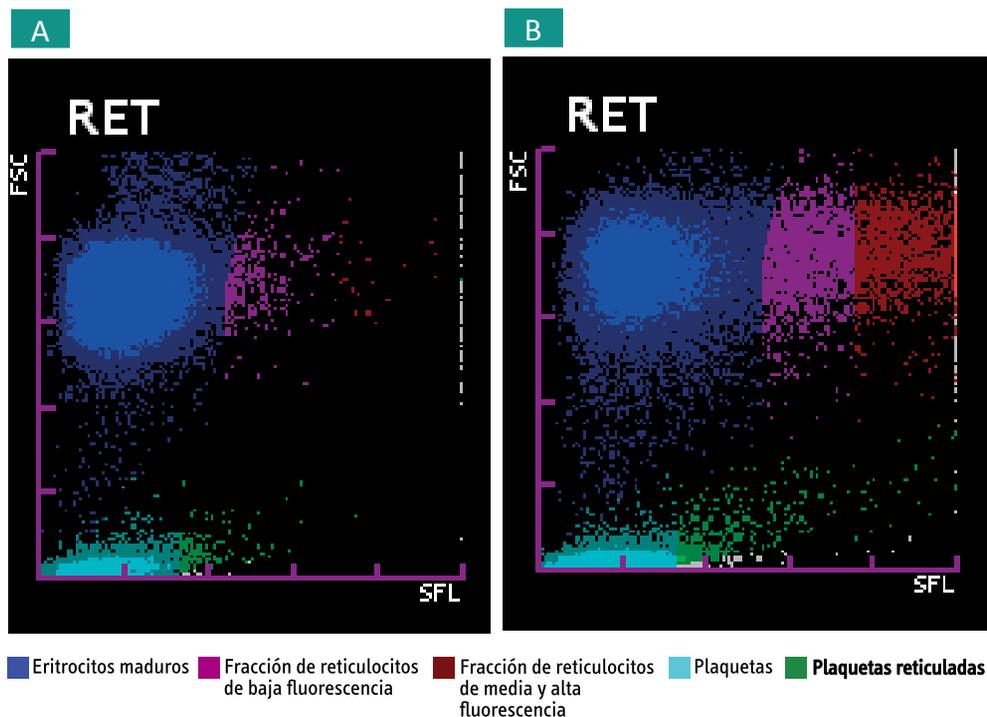
La fracción de reticulocitos inmaduros, también denominada índice de maduración de los reticulocitos, corresponde a los reticulocitos que han sido producidos más recientemente en la médula ósea. Como se mencionó, los reticulocitos se diferencian de los eritrocitos por su contenido de ARN; a su vez, los reticulocitos se pueden diferenciar entre sí según la cantidad de ARN, de forma que aquellos que llevan menos tiempo en circulación tienen más ARN y captan con mayor intensidad el colorante fluorescente, por lo que el equipo Sysmex XE-2100® y otros modelos de esta compañía son capaces de discriminarlos de los reticulocitos más maduros, como se observa en la [figura 5](#). Es así, como los reticulocitos se diferencian en tres poblaciones: baja, media y alta fluorescencia, y la suma de las últimas dos corresponde a la fracción de reticulocitos inmaduros [128].

## Valores de referencia

Los valores de referencia para la fracción de reticulocitos inmaduros, a título informativo, en una entidad privada de Medellín, Colombia [24], corresponde a 3,0% a 15,9%. No obstante, cada laboratorio clínico debe definir sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población, la instrumentación, los factores que pueden modificar el valor esperado de un lugar a otro, de una institución a otra y de un instrumento a otro y otras consideraciones que puedan estar asociadas con la validez de resultado [20].

## Utilidad clínica

La fracción de reticulocitos inmaduros (IRF por su significado en inglés *Immature Reticulocyte Fraction*) es un rápido y sensible indicador del aumento de eritropoyesis, por lo que su evaluación resulta muy útil después de un trasplante de progenitores hematopoyéticos o después de la quimioterapia [130-132].



**Figura 5.** Citograma de reticulocitos del Sysmex XE-2100®. **A.** Citograma de reticulocitos en un paciente con valores normales (recuento relativo: 1,22%, recuento absoluto: 58.000 por  $\mu\text{L}$ ). Se observa una baja proporción de reticulocitos y la fracción de reticulocitos inmaduros se encuentran en cantidad normal (5,2%). **B.** Citograma de reticulocitos en un paciente con anemia regenerativa, en este caso, anemia falciforme. El recuento de reticulocitos está aumentado (recuento relativo: 24,59%, recuento absoluto: 597.500 por  $\mu\text{L}$ ), como también la fracción de reticulocitos inmaduros (51,8%). Laboratorio Clínico Hematológico. Medellín, Colombia.

También es de utilidad para el seguimiento de pacientes que se encuentran en tratamiento de anemias por déficit nutricional para evaluar y ajustar la terapia administrada [10], ya que la fracción de reticulocitos inmaduros aumenta antes de que lo haga el recuento total de reticulocitos [123].

Adicionalmente, en conjunto con el recuento total de reticulocitos, la fracción de reticulocitos inmaduros permite diferenciar las anemias en las que hay respuesta medular, como las anemias hemolíticas y las causadas por hemorragias, de aquellas en la que la producción medular de masa eritroide es insuficiente, como en la anemia por enfermedad crónica [123]. Una excepción a esta situación es la esferocitosis hereditaria, que a pesar de ser una anemia hemolítica, cursa con reticulocitosis sin un aumento de la fracción de reticulocitos inmaduros y esta diferencia contribuye al diagnóstico de esta enfermedad [133].

## Observaciones adicionales

La fracción de reticulocitos inmaduros es uno de los índices reticulocitarios con más futuro en el ámbito clínico, ya que permite identificar con mayor antelación la recuperación medular postrasplante, puesto que aparecen a los 13 días, a diferencia de los neutrófilos que aparecen a los 27 días y de las plaquetas a los 38 días [134]; en este sentido, se considera que un incremento del 2% en la fracción de reticulocitos inmaduros durante dos días con-

secutivos al procedimiento es un buen indicador de la recuperación de la actividad de la médula ósea [135].

Por otra parte, uno de los factores responsable de resultados espurios en la fracción de reticulocitos inmaduros es el recuento elevado de leucocitos [128], lo cual se puede solucionar diluyendo la muestra con una solución isotónica. De acuerdo con lo anterior, se han observado valores falsamente elevados en pacientes con leucemia [136].

## ■ Hemoglobina reticulocitaria

La hemoglobina reticulocitaria es un nuevo parámetro eritrocitario, de gran importancia clínica, que solo se encuentra disponible en unos pocos autoanalizadores de hematología, como el Sysmex XE-2100® y otros modelos de esta compañía, entre otros [137, 138]. Más que un nuevo parámetro de los glóbulos rojos en general, la hemoglobina reticulocitaria es un nuevo parámetro de los reticulocitos en particular, que como su nombre lo insinúa, corresponde al grado de hemoglobinización de los reticulocitos circulantes, esto es, a un índice de hemoglobinización de las últimas 48 a 72 horas [137, 139, 140]. La hemoglobina reticulocitaria es a los reticulocitos lo que la hemoglobina corpuscular media es a los eritrocitos, en la medida en que ambos parámetros miden la cantidad de hemoglobina presente en cada célula como índice de hemoglobinización.

### Valores de referencia

De acuerdo con lo reportado en la literatura mundial, los valores de referencia para la hemoglobina reticulocitaria están entre 24,1 pg a 35,8 pg [138]. En el medio aún no hay estudios que definan los valores de referencia de la hemoglobina reticulocitaria como se recomienda en las buenas prácticas de laboratorio [20].

### Utilidad clínica

La hemoglobina reticulocitaria es de particular importancia en la detección precoz de la disminución del depósito de hierro, ya que es uno de los parámetros más sensibles para detectarla [140] y, similar a la ferritina, sus valores disminuyen aun cuando los parámetros eritrocitarios básicos y el ancho de distribución de los eritrocitos continúan normales. Por ello, la hemoglobina reticulocitaria se emplea para el tamizaje de ferropenia en la población general [139, 141-145] y resulta de gran utilidad para evaluar los depósitos de hierro en los pacientes con enfermedad renal que reciben eritropoyetina [146-151].

Por otra parte, la hemoglobina reticulocitaria es útil en la detección del *doping* por eritropoyetina, como lo han demostrado recientemente varios autores [152-155].

### Observaciones adicionales

Como ya se ha expresado, esta prueba solo está disponible en los hemogramas tipo VI de algunos de los autoanalizadores de hematología, como el Sysmex XE-2100® y otros modelos de esta compañía, entre otros [156]. Este parámetro tiene una excelente precisión estabili-

dad y con el tiempo solo se presentan mínimas variaciones en los resultados, ya sea que las muestras se dejen a temperatura ambiente o se refrigeren a 4°C [138].

A pesar de que la disminución de la hemoglobina reticulocitaria se relaciona estrechamente con el déficit de hierro, los pacientes con  $\beta$  talasemia heterocigota tienen disminución en los valores de este parámetro, independiente del estado de los depósitos de hierro [123].

## Leucograma

El leucograma se define como el análisis cuantitativo y cualitativo de los parámetros relacionados con los leucocitos o glóbulos blancos en la sangre periférica [10]. Similar al eritrograma, el leucograma está compuesto por parámetros básicos, entre los cuales se incluyen el recuento total de leucocitos y el recuento diferencial de leucocitos y por nuevos parámetros, derivados de la incorporación de los autoanalizadores de hematología al laboratorio clínico, como el recuento de granulocitos inmaduros, el recuento de eritroblastos circulantes y la detección de malaria, entre otros.

## Parámetros básicos del leucograma

Los parámetros básicos del leucograma, independiente del tipo de hemograma y del método utilizado para obtenerlo, son aquellos que deben estar presentes en todos los casos: el recuento total de leucocitos y el recuento diferencial de leucocitos. Además, el estudio de la morfología de los leucocitos en extendidos de sangre periférica se considera parte integral del leucograma [10].

### ■ Recuento total de leucocitos

El recuento total de leucocitos corresponde a la determinación de la cantidad de leucocitos en sangre periférica por unidad de volumen de sangre. En los hemogramas tipo III, IV y V, el recuento total de leucocitos se realiza mediante el principio de impedancia eléctrica [157] y en los hemogramas tipo VI mediante el enfoque hidrodinámico [23]; ambos principios de medición se describieron en publicaciones previas [10].

## Valores de referencia

**Tabla 11. Valores de referencia para el recuento total de leucocitos en una entidad privada de Medellín, Colombia [24]**

Población	Valores de referencia (por $\mu\text{L}$ )
1 a 15 días, ambos géneros	9.000 a 30.000
16 a 31 días, ambos géneros	5.000 a 21.000
1 a 12 meses, ambos géneros	6.000 a 17.500
1 a 5 años, ambos géneros	5.500 a 15.500
6 a 14 años, ambos géneros	4.500 a 14.500
Mayores de 15 años, ambos géneros	4.500 a 11.000

En la **tabla 11** se presentan los valores de referencia para el recuento total de leucocitos, a título informativo, en una entidad privada de Medellín, Colombia [24], ya que cada laboratorio clínico debe definir sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población, la instrumentación,

los factores que pueden modificar el valor esperado de un lugar a otro, de una institución a otra y de un instrumento a otro y otras consideraciones que puedan estar asociadas con la validez de resultado [20].

## Utilidad clínica

El recuento total de leucocitos define los conceptos de leucopenia y leucocitosis, cuando el recuento está por debajo o por encima del valor esperado según la edad, que se pueden presentar en una amplia gama de situaciones clínicas [10].

En los últimos años, se ha enfatizado en el papel del recuento total de leucocitos elevado como factor de riesgo cardiovascular independiente [158-162] y en especial del recuento de polimorfonucleares neutrófilos en los valores superiores, aun estando “normal” de acuerdo con los valores de referencia [163].

## Observaciones adicionales

Los coeficientes de variación del recuento total de leucocitos por métodos electrónicos, independiente del instrumento utilizado, usualmente están por debajo del 1% [164] y su aplicación es costo-eficiente. Es importante recordar que el recuento total de leucocitos tiene variaciones importantes relacionadas con la raza, siendo más bajo en la raza negra que en la blanca [165]; con el ciclo circadiano, presentándose los valores más altos en las horas de la tarde [166]; con el consumo de algunos medicamentos como la epinefrina, con un incremento del recuento total de leucocitos que puede llegar a ser superior a 30.000/ $\mu$ L [167]; con el embarazo, etapa en la que aumenta el recuento y se normaliza a partir de la primera semana posparto [168]; con la edad, ya que tiende a ser más bajo a medida que pasan los años, especialmente en la subpoblación de linfocitos, posiblemente por “agotamiento celular”; con el ejercicio, y con el estrés.

Con respecto a los resultados espurios, a continuación se mencionan las causas más comunes de resultados falsamente elevados o falsamente disminuidos:

### *Seudoleucocitosis*

Laseudoleucocitosis, falso aumento de leucocitos, se presenta por diferentes causas, entre ellas cuando hay precipitados de inmunoglobulinas o fibrinógeno [169-173], en especial crioglobulinas [171, 172, 174-176] o criofibrinógeno [177].

Cuando hay crioaglutininas, es posible que el lisante de eritrocitos no logre por completo su objetivo y que algunos de los eritrocitos que permanecen intactos sean contados como leucocitos [14, 178-181] en contadores que utilizan la impedancia eléctrica, lo que no sucede en autoanalizadores que emplean la citometría de flujo para identificar las células como el Sysmex XE-2100®.

De igual forma, en los autoanalizadores que no están capacitados para el recuento y la diferenciación de los eritroblastos, éstos pueden ser contados como leucocitos, alteración que no se presenta en hemogramas procesados en Sysmex XE-2100® o en otros autoanalizadores de última generación [123].

Con las mejoras tecnológicas también se ha perfeccionado la diferenciación de los leucocitos y la discriminación entre estas células y otras que anteriormente daban origen a resultados falsamente elevados, como la presencia de agregados de plaquetas. En la actualidad, los equipos más modernos reconocen y alertan sobre la presencia de agregados, sin contarlos como leucocitos; no obstante, si hay plaquetas muy grandes, como en algunas neoplasias mieloproliferativas, éstas se pueden contar como leucocitos [27].

### *Seudoleucopenia*

Laseudoleucopenia, falsa disminución de leucocitos, se presenta cuando la muestra se ha almacenado por largos periodos a temperatura ambiente y en consecuencia se produce deterioro e incluso destrucción de los leucocitos [44, 182]. De igual forma, se presentan resultados espurios cuando los tubos están muy llenos o no están bien mezclados, aunque esta última se soluciona en los autoanalizadores de última generación que tienen agitador y automuestreador incorporado [183].

De forma similar, en enfermedades que cursan con leucocitos frágiles, como algunos casos de leucemia linfóide crónica, el resultado del recuento total de leucocitos puede ser más bajo de lo real [184]; la fragilidad celular también se puede presentar en pacientes con uremia bajo tratamiento con inmunosupresores [185].

En casos de agregación de neutrófilos inducida por anticuerpos contra EDTA [186-192] o por crioaglutininas, disminuye el recuento total de leucocitos y a su vez, el recuento absoluto de neutrófilos [27]. Además, otros tipos de anticuerpos [182, 193, 194] y mucopolisacáridos relacionados con neoplasias, en especial los adecarcinomas [195] pueden generar pseudo-leucopenia.

## ■ Recuento diferencial de leucocitos

El recuento diferencial de leucocitos consiste en la cuantificación de las subpoblaciones leucocitarias en sangre periférica. Este es uno de los parámetros del hemograma que más se ha modificado a medida que se desarrollan autoanalizadores que combinan múltiples tecnologías. Es así, como se pasó de recuentos diferenciales de tres partes en hemogramas tipo IV realizados mediante el principio Coulter, a hemogramas tipo VI con diferencial de seis partes, que a partir de la combinación de tamaño, la granularidad, las características inmunohistoquímicas y el patrón de fluorescencia de los glóbulos blancos, permiten discriminar las subpoblaciones leucocitarias con un alto grado de sensibilidad y especificidad.

Es por ello, que en los hemogramas tipo VI no se requiere que en todos los casos se realice recuento diferencial en el extendido de sangre periférica, sino que hay indicaciones muy precisas sobre cuándo se debe revisar, lo cual no será objeto de este artículo.

### Valores de referencia

En la [tabla 12](#) se presentan los valores de referencia para el recuento total de leucocitos, a título informativo, en una entidad privada de Medellín, Colombia [24] ya que cada laboratorio clínico debe definir sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población, la instrumentación, los factores que pueden modificar el valor esperado de un lugar a otro, de

una institución a otra y de un instrumento a otro y otras consideraciones que puedan estar asociadas con la validez de resultado [20].

**Tabla 12. Valores de referencia para el recuento total de leucocitos en una entidad privada de Medellín, Colombia [24]**

Población	Polimorfonucleares neutrófilos (por $\mu\text{L}$ )	Bandas neutrófilas (por $\mu\text{L}$ )	Polimorfonucleares eosinófilos (por $\mu\text{L}$ )	Polimorfonucleares basófilos (por $\mu\text{L}$ )	Linfocitos (por $\mu\text{L}$ )	Monocitos (por $\mu\text{L}$ )
1 a 15 días, ambos géneros	1.000 a 12.000	0 a 100	40 a 500	0 a 50	3.000 a 9.000	30 a 750
16 a 31 días, ambos géneros	1.000 a 12.000	0 a 100	40 a 500	0 a 50	3.000 a 9.000	30 a 750
1 a 12 meses, ambos géneros	1.000 a 12.000	0 a 100	40 a 500	0 a 50	3.000 a 9.000	30 a 750
1 a 5 años, ambos géneros	1.700 a 7.500	0 a 100	40 a 500	0 a 50	3.000 a 9.000	30 a 750
6 a 14 años, ambos géneros	1.500 a 6.500	0 a 100	40 a 500	0 a 50	2.000 a 7.200	30 a 750
Mayores de 15 años, ambos géneros	1.500 a 8.000	0 a 100	40 a 500	0 a 50	1.500 a 4.000	30 a 900

## Utilidad clínica

El recuento diferencial de leucocitos es un criterio indispensable para definir los conceptos hematológicos, tales como:

- Neutrofilia, cuando el recuento absoluto de polimorfonucleares neutrófilos está por encima del valor de referencia y neutropenia, cuando está por debajo del valor de referencia; para la neutropenia, se define su severidad, y cuando el recuento absoluto de polimorfonucleares neutrófilos es menor que 1.000/  $\mu\text{L}$ , corresponde a una agranulocitosis.
- Eosinofilia, cuando el recuento absoluto de eosinófilos está por encima del valor de referencia y eosinopenia, cuando está por debajo del valor de referencia.
- Basofilia, cuando el recuento absoluto de basófilos está por encima del valor de referencia y basopenia, aunque poco frecuente, cuando está por debajo del valor de referencia.
- Linfocitosis, cuando el recuento absoluto de linfocitos está por encima del valor de referencia y linfopenia, cuando está por debajo del valor de referencia.
- Monocitosis, cuando el recuento absoluto de monocitos está por encima del valor de referencia y monocitopenia, cuando está por debajo del valor de referencia.

En todos los casos, el aumento o la disminución se define de acuerdo con el valor de referencia, dependiendo de la edad; además, los resultados anormales se señalizan con un asterisco en el informe de los resultados.

## Observaciones adicionales

El recuento diferencial de leucocitos se puede afectar cuando hay seudoleucocitosis o seudoleucopenia, con mayor efecto sobre el recuento de linfocitos y de neutrófilos. Es posible que si esta situación no se detecta oportunamente, el paciente sea sometido a estudios complementarios o a tratamientos innecesarios. En cualquier hemograma automatizado se puede presentar seudoneutropenia cuando los neutrófilos sufren agregación inducida por EDTA [27, 186, 187, 191]. Por otra parte, en muestras lipémicas de pacientes con enfermedades hepáticas o con nutrición parenteral, se ha descrito que a pesar de que se obtiene un recuento de leucocitos, el autoanalizador de hematología Sysmex XE-2100® presenta dificultades en el recuento diferencial y no ofrece los resultados respectivos, aunque esta alteración se corrige mediante la dilución de la muestra [196].

## Nuevos parámetros del leucograma

Algunos autoanalizadores de hematología de última generación, como el Sysmex XE-2100®, proveen otros parámetros que han demostrado ser de vital importancia en determinadas situaciones clínicas, de forma que amplían el espectro clínico del hemograma en general y del leucograma en particular. De éstos, los más importantes son el recuento de granulocitos inmaduros, el recuento de eritroblastos circulantes y la posibilidad de detectar malaria, como se analizará en los siguientes subtítulos.

### ■ Recuento de granulocitos inmaduros

Los contadores hematológicos de última generación, como el Sysmex XE-2100®, mediante citometría de flujo [197] identifican los granulocitos intermedios (metamielocitos, mielocitos y promielocitos) [198] y los cuantifican, ya que al tener más ARN y ADN emiten más fluorescencia que los neutrófilos maduros. Estas células corresponden en la práctica a lo que convencionalmente se conoce como “desviación a la izquierda” de los neutrófilos, propio de los cuadros infecciosos bacterianos [199], aunque en algunos casos su presencia se relaciona con procesos leucémicos o infiltración medular [200].

## Valores de referencia

Los valores de referencia para el recuento de granulocitos inmaduros es de 0 por  $\mu\text{L}$  a 600 por  $\mu\text{L}$  en ambos sexos [201]. En el medio aún no hay estudios que definan los valores de referencia para este parámetro como se recomienda en las buenas prácticas de laboratorio [20].

## Utilidad clínica

El recuento de granulocitos inmaduros es útil en el diagnóstico y seguimiento de procesos bacterianos, con una estrecha relación entre este parámetro y otros marcadores de inflamación como la proteína C reactiva y la eritrosedimentación [196, 202]. Se ha hecho énfasis en su potencial uso como indicador temprano de sepsis en neonatos [203] y en individuos con síndrome de respuesta inflamatoria sistémica [204].

Por otra parte, el recuento de granulocitos inmaduros aumenta en pacientes con neoplasias que hacen metástasis en medula ósea, en cuyo caso se observa una reacción leucoeritroblástica en sangre periférica, que generalmente se acompaña de dacriocitos (eritrocitos en forma de gotera). De igual forma, su concentración en sangre periférica aumenta en pacientes con neoplasias hematológicas de origen mielóide que cursan con células de maduración intermedia en periferia, como la leucemia mielóide aguda con maduración y la leucemia mielóide crónica [205], entre otras.

## Observaciones adicionales

En general, el recuento de granulocitos inmaduros tiene un buen desempeño, presenta una excelente correlación con el recuento de granulocitos inmaduros realizado mediante citometría de flujo con uso de anticuerpos monoclonales; además, los valores que se obtienen por el método automatizado son más exactos que los del método manual, en especial si el recuento de granulocitos inmaduros es bajo [127, 206].

## ■ Recuento de eritroblastos circulantes

Los contadores hematológicos de última generación, como el Sysmex XE-2100®, mediante citometría de flujo con fluorescencia, detectan y cuantifican la presencia de eritroblastos (eritrocitos nucleados) en la sangre periférica [156]. En los hemogramas tipo IV y V, los eritroblastos se pueden confundir con leucocitos y se cuentan como tales y es frecuente que estos pasen inadvertidos al examinador [10], sobre todo cuando no se hace estudio de sangre periférica de rutina o cuando las alarmas así lo establezcan.

## Valores de referencia

En condiciones normales no hay eritroblastos en circulación, a excepción de los neonatos y los fetos, en cuyo caso, en la literatura médica mundial se reporta que el valor de referencia para sangre de cordón umbilical es de 300 por  $\mu\text{L}$  a 4.800 por  $\mu\text{L}$ , mientras que en los neonatos de ocho días el valor es de 300 por  $\mu\text{L}$  a 1.100 por  $\mu\text{L}$  [207]. En el medio aún no hay estudios que definan los valores de referencia del recuento de eritroblastos nucleados en neonatos [20].

## Utilidad clínica

En condiciones normales, solo es posible observar eritroblastos en sangre periférica fetal y ocasionalmente en neonatos. También es posible observarlos en casos de recuperación de anemias o en estados poshemorrágicos severos [10, 208].

Patológicamente, cuando se observan eritroblastos en sangre periférica se está frente a una anemia hemolítica (exceso de destrucción de los eritrocitos) o frente a un daño estructural de la medula ósea, por ejemplo en un caso mielofibrosis, una metástasis (mieloptisis) o una neoplasia hematológica [10, 123]. Además, en los pacientes que reciben quimioterapia para neoplasias hematológicas pueden haber eritroblastos en circulación, pero desaparecen en la fase de remisión [209].

Por otra parte, la presencia de eritroblastos circulantes es un factor adverso en pacientes con infecciones u otras condiciones no hematológicas. Por ejemplo, en los neonatos pre-término de madres con preeclampsia, un recuento de eritroblastos mayor del 40% es un predictor de desenlace adverso [210]. Además, los pacientes con sepsis y con eritroblastos circulantes tienen un riesgo de muerte superior al de pacientes con sepsis y sin eritroblastos [211].

Se ha observado que los pacientes hospitalizados y con presencia de eritroblastos tienen menos oxigenación, por lo que la presencia de estas células constituye un factor adverso [212], como también se ha descrito que los pacientes hospitalizados tienen mayor riesgo de muerte si el recuento de eritroblastos supera el 20% [213].

## Observaciones adicionales

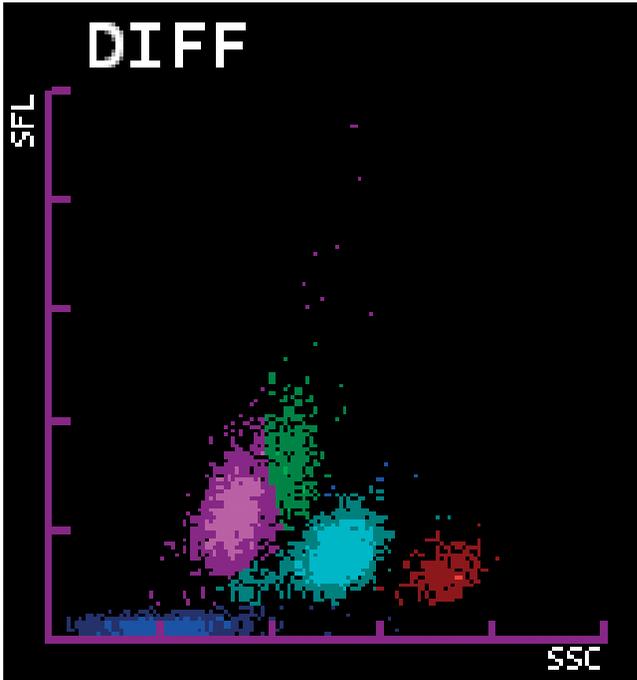
En los hemogramas tipo IV y V se debe realizar la corrección del recuento total de leucocitos cuando hay eritroblastos en circulación; para ello, se cuenta la cantidad de eritroblastos por cada 100 leucocitos y luego se extrae el total de eritroblastos del recuento total de leucocitos obtenido por el autoanализador [127]. Por su parte, en los hemogramas que se realizan en autoanализadores que discriminan los eritroblastos, se obtienen recuentos de leucocitos muy exactos y no se requiere la corrección manual [214].

## ■ Gráficos de distribución de las poblaciones leucocitarias

En los autoanализadores Sysmex XE-2100® y otros modelos de esta compañía, tanto el recuento diferencial de leucocitos como el recuento de granulocitos inmaduros están acompañados de gráficos de distribución celular, también conocidos como dispersogramas o citogramas, que se relacionan estrechamente con las anomalías cuantitativas de los leucocitos, en tanto que representan de forma gráfica las subpoblaciones celulares de sangre periférica. No obstante, se debe aclarar que todos los autoanализadores de hematología ofrecen gráficos de distribución celular, los cuales dependerán de los principios de medición y del desempeño analítico de los equipos. En este caso, solo se hará referencia a dispersogramas de población leucocitaria (DIFF e IMI) disponible en los autoanализadores Sysmex XE-2100® y otros modelos de esta compañía [215].

El citograma DIFF corresponde a todos los leucocitos; en el eje Y se grafica la intensidad de fluorescencia, determinada por la cantidad de ARN y de ADN, y en el eje X se grafica la dispersión lateral de luz, que hace referencia a la complejidad celular [198, 206]. En condiciones normales, solo se observan neutrófilos y basófilos, eosinófilos, linfocitos y monocitos, como se observa en la [figura 6](#). No obstante, en este gráfico es posible observar poblaciones celulares anormales y según su localización en el citograma, se puede sospechar a qué linaje o grupo celular corresponde, como se esquematiza en la [figura 7](#).

Por ejemplo, en la serie XE de Sysmex, se identifican las células con alta intensidad de fluorescencia, es decir, aquellas que superan la fluorescencia emitida por los monocitos, que por lo general corresponden a células inmaduras o blastos, a linfocitos reactivos o a células plasmáticas, y algunos modelos de dicha serie están equipados para cuantificar los linfocitos de alta fluorescencia, que característicamente secretan anticuerpos, como sucede en algunas condiciones reactivas, en el mieloma de células plasmáticas y en algunas formas de



- Linfocitos
- Monocitos
- Neutrófilos
- Eosinófilos

**Figura 6.** Citograma DIFF de leucocitos de un paciente con recuento diferencial normal. Sysmex XE-2100®. Laboratorio Clínico Hematológico. Medellín, Colombia.

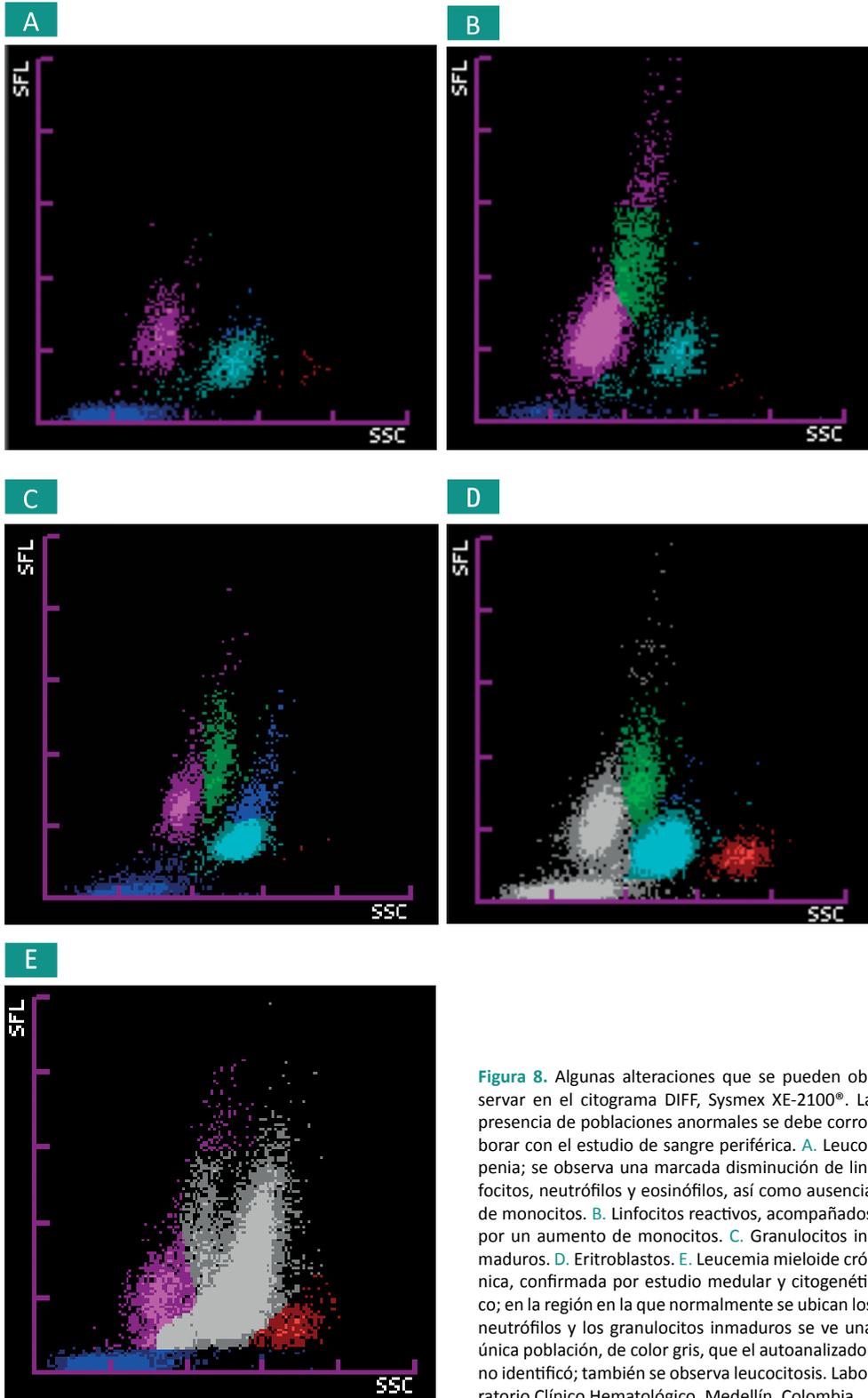


1. Linfocitos
2. Monocitos
3. Neutrófilos y basófilos
4. Eosinófilos
5. Fantasma de eritrocitos
6. Agregados plaquetarios
7. Eritroblastos
8. Linfocitos reactivos o blastos
9. Granulocitos inmaduros
10. Bandas neutrófilas

**Figura 7.** Poblaciones celulares que se pueden observar en el citograma DIFF, Sysmex XE-2100®. Modificado de Rowan y colaboradores [217].

linfomas [216]. Es así, como a medida que se perfeccionan las tecnologías para discriminar automáticamente los linajes celulares y el estado de maduración, el citograma DIFF ofrece cada vez más información.

Si bien las alteraciones identificadas en el dispersograma DIFF no siempre son concluyentes, son una excelente herramienta para detectar anomalías en sangre periférica y por lo



**Figura 8.** Algunas alteraciones que se pueden observar en el citograma DIFF, Sysmex XE-2100®. La presencia de poblaciones anormales se debe corroborar con el estudio de sangre periférica. **A.** Leucopenia; se observa una marcada disminución de linfocitos, neutrófilos y eosinófilos, así como ausencia de monocitos. **B.** Linfocitos reactivos, acompañados por un aumento de monocitos. **C.** Granulocitos inmaduros. **D.** Eritroblastos. **E.** Leucemia mieloide crónica, confirmada por estudio medular y citogenético; en la región en la que normalmente se ubican los neutrófilos y los granulocitos inmaduros se ve una única población, de color gris, que el autoanalizador no identificó; también se observa leucocitosis. Laboratorio Clínico Hematológico. Medellín, Colombia.

tanto, indican si es mandatorio hacer el extendido de sangre periférica para dar un resultado más acertado y de mayor aplicabilidad clínica. En la [figura 8](#) se observan algunas alteraciones del citograma DIFF.

El citograma IMI corresponde únicamente a las células mieloides inmaduras, por lo cual se correlaciona con el recuento de granulocitos inmaduros, como también con la presencia de blastos y de bandas neutrófilas en el extendido de sangre periférica. Para realizar el IMI, se realiza una lisis selectiva de células maduras, ya que las células mieloides inmaduras tienen diferencias en la composición de la membrana celular.

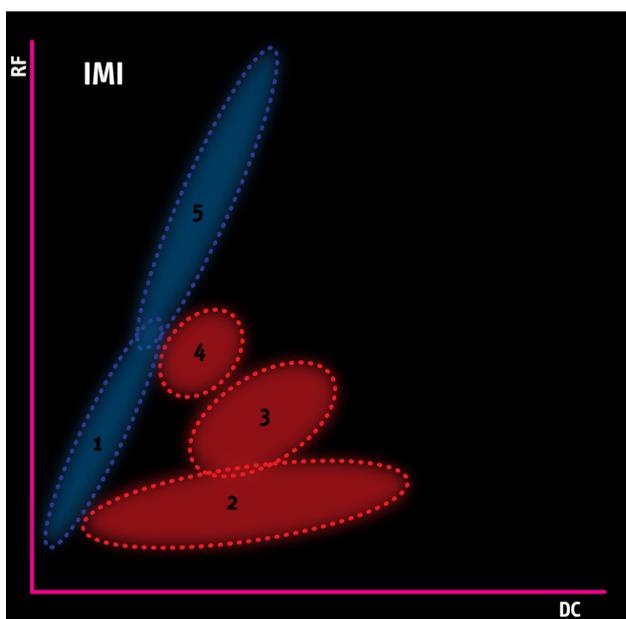
En un individuo hematológicamente sano no se observan células en este citograma. En este gráfico se observan los blastos, generalmente de origen mielóide, los granulocitos intermedios y las bandas neutrófilas [156, 196, 218]. Similar al DIFF, según la localización de la población se presume cuál es la célula anormal que está presente en sangre periférica (ver [figura 9](#)). En la [figura 10](#) se observan algunos hallazgos que se pueden presentar en el citograma IMI.

## ■ Detección de malaria

Algunos autoanalizadores de hematología, especialmente los de última generación como el Sysmex XE-2100®, permiten identificar parásitos de malaria mediante alarmas que se le pueden incorporar al instrumento [219-221].

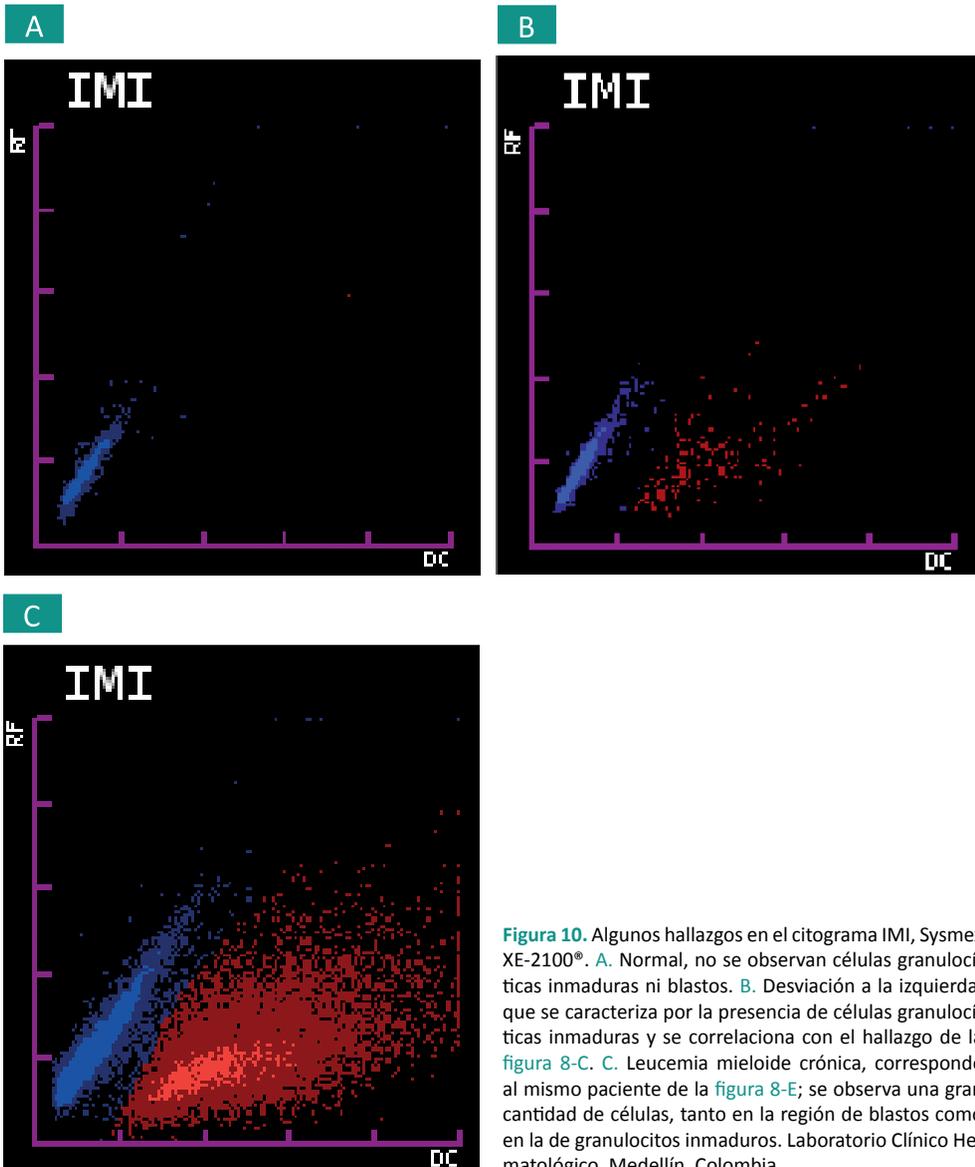
### Utilidad clínica

La posibilidad de detectar malaria en hemogramas de rutina, en particular de los hemogramas tipo VI, es un gran avance para la detección de esta infección, si se tiene en cuenta que



1. Fantasma
2. Blastos, principalmente mieloides
3. Granulocitos inmaduros
4. Bandas neutrófilas
5. Agregados plaquetarios, detritos celulares

**Figura 9.** Poblaciones celulares que se pueden observar en el citograma IMI, Sysmex XE-2100®. Modificado de Rowan y colaboradores [217].

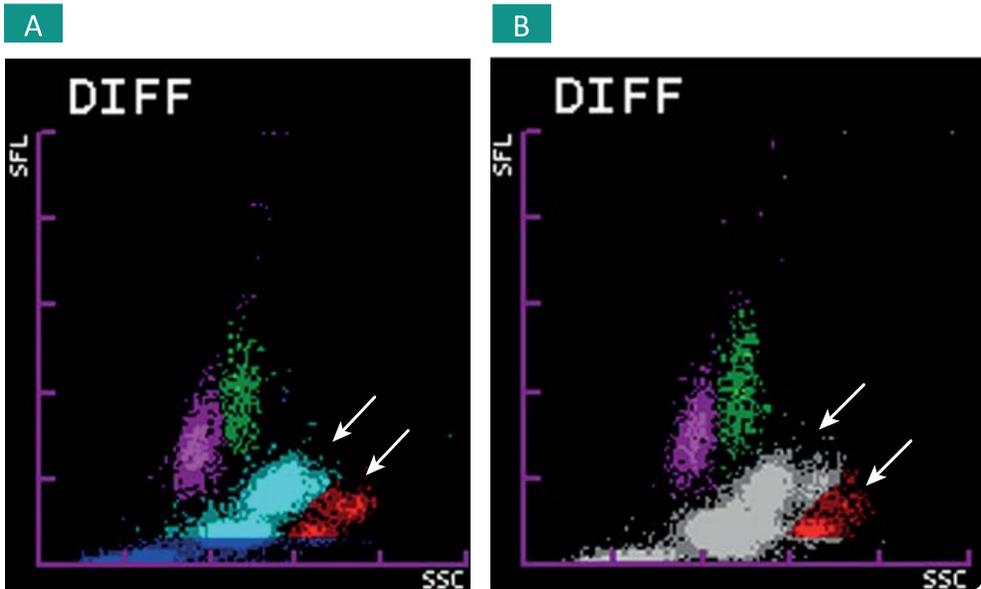


**Figura 10.** Algunos hallazgos en el citograma IMI, Sysmex XE-2100®. **A.** Normal, no se observan células granulocíticas inmaduras ni blastos. **B.** Desviación a la izquierda, que se caracteriza por la presencia de células granulocíticas inmaduras y se correlaciona con el hallazgo de la figura 8-C. **C.** Leucemia mieloide crónica, corresponde al mismo paciente de la figura 8-E; se observa una gran cantidad de células, tanto en la región de blastos como en la de granulocitos inmaduros. Laboratorio Clínico Hematológico. Medellín, Colombia.

muchas veces este diagnóstico pasa desapercibido y un simple hemograma puede alertar al examinador para buscar los parásitos en el extendido de sangre periférica [219, 220].

## Observaciones adicionales

La principal alteración que permite sospechar la infección por malaria en las muestras procesadas en Sysmex XE-2100® es una falsa eosinofilia, que se puede presentar como un recuento falsamente elevado, la presencia de dos poblaciones de eosinófilos en el citograma DIFF, la unión de eosinófilos y de neutrófilos en dicho citograma o la observación de poblaciones dobles de neutrófilos y eosinófilos [219, 220, 222, 223], como se esquematizan en la figura 11.



**Figura 11.** Alteración en el dispersograma de leucocitos de un paciente con malaria. Se observan dos poblaciones de neutrófilos (azul claro o gris) y dos de eosinófilos (rojo). Tomado de Campuzano-Zuluaga y colaboradores [220].

## Trombograma

El trombograma es el análisis cuantitativo y cualitativo de los parámetros relacionados con los trombocitos o plaquetas en la sangre periférica [10]. El trombograma está compuesto por parámetros básicos como el recuento de plaquetas y por nuevos parámetros, como el volumen medio plaquetario, el ancho de distribución de las plaquetas, el plaquetocrito y las plaquetas reticuladas, entre otros.

### Parámetros básicos del trombograma

El parámetro cuantitativo básico del trombograma, independiente del tipo de hemograma, es el recuento de plaquetas [10]. El estudio de la morfología de las plaquetas en extendidos de sangre periférica también hace parte integral del trombograma, pero su análisis no es objeto de este artículo.

#### ■ Recuento de plaquetas

El recuento de plaquetas corresponde a la cantidad de plaquetas en sangre periférica por unidad de volumen de sangre. El recuento automatizado característicamente tiene un coeficiente de variación bajo, que es de aproximadamente 4,0% en los instrumentos de primera generación [12] e inferior al 1% en los autoanalizadores de hematología de última generación, como el Sysmex XE-2100® [21]. En los hemogramas tipo III, tipo IV y tipo V el recuento

de plaquetas se realiza mediante impedancia eléctrica [157] y en el hemograma tipo VI mediante enfoque hidrodinámico [23] y dispersión óptica, gracias a los citómetros de flujo incorporados en los autoanalizadores de hematología de última generación, como el Sysmex XE-2100®.

## Valor de referencia

El valor de referencia del recuento de plaquetas es de 150.000 a 450.000 por  $\mu\text{L}$  [24]. Se debe insistir en el hecho de que cada laboratorio clínico defina sus valores de referencia de acuerdo con la población, la instrumentación, los factores que pueden modificar el valor esperado de un lugar a otro, de una institución a otra y de un instrumento a otro y otras consideraciones que puedan estar asociadas con la validez de resultado [20].

## Utilidad clínica

El recuento de plaquetas es un criterio indispensable para definir los conceptos de trombocitopenia, cuando el recuento de plaquetas está por debajo de 150.000 por  $\mu\text{L}$ , y de trombocitosis o trombocitemia, cuando el recuento de plaquetas está por encima de 450.000 por  $\mu\text{L}$ .

## Observaciones adicionales

En los hemogramas tipo VI obtenidos en autoanalizadores Sysmex como el modelo XE-2100®, se realizan dos recuentos de plaquetas mediante diferentes principios de medición: el enfoque hidrodinámico y la dispersión óptica. Cuando en la muestra hay macroplaquetas o eritrocitos fragmentados (esquistocitos), éstos pueden interferir en el recuento de plaquetas por enfoque hidrodinámico, ya que disminuye la capacidad para discriminar entre eritrocitos y plaquetas según el tamaño. Debido a que las macroplaquetas y los esquistocitos no afectan el recuento por dispersión óptica, los valores obtenidos por los dos métodos difieren y mediante un algoritmo incorporado al software del analizador, automáticamente se informa el recuento de plaquetas obtenido por óptica [156, 224]. Por otra parte, en el recuento de plaquetas también se pueden obtener resultados espurios, como se describirá a continuación.

### *Seudotrombocitopenia*

Laseudotrombocitopenia es un recuento de plaquetas falsamente disminuido; como resultado de este «error del contador», es posible que si está situación no se detecta oportunamente el paciente sea sometido a estudios complementarios, por ejemplo, estudio de medula ósea, y a tratamientos innecesarios, por ejemplo, esteroides, citostáticos y esplenectomía [14, 28]; los estudios y tratamientos complementarios son un riesgo en pacientes que tienen seudoleucocitosis a causa de laseudotrombocitopenia [180, 225]. El recuento de plaquetas puede estar falsamente disminuido por diferentes causas:

- Cuando hay aglutinación de plaquetas, inducida por ejemplo por el EDTA, la cual es un hallazgo frecuente [62, 180, 225, 226] (0,9% en hemogramas de pacientes ambulatorios y 1,9% en hemogramas de pacientes hospitalizados [180]). Este fenómeno es más común en pacientes con enfermedades autoinmunes, hepatopatías como la cirrosis hepática

[227], neoplasias, arteriosclerosis [180], sepsis [228] y mononucleosis infecciosa [229]. También se ha observado asociado a drogas como la olanzapina [230] y el ácido valproico [231], así como en niños pretérmino [232].

- Cuando hay satelitismo plaquetario [233, 234], generalmente dependiente del EDTA [178, 180, 193, 226, 235-239], el anticoagulante de elección en la toma de muestra que se procesará para hemograma. El satelitismo plaquetario generalmente se presenta con los neutrófilos, pero también se puede observar con monocitos, linfocitos, eosinófilos y basófilos. Se ha descrito en diferentes enfermedades [237], como la vasculitis [239] y la enfermedad hepática crónica [240]; también se ha descrito en gestantes, sin enfermedad asociada [241]. La seudotrombocitopenia por satelitismo plaquetario, si no se detecta oportunamente mediante el estudio cuidadoso de los extendidos de sangre periférica, puede pasar desapercibida y el paciente ser sometido a estudios y procedimientos innecesarios, incluida la posibilidad de hacer una esplenectomía que no necesita, si se le clasifica erróneamente como una trombocitopenia inmune.
- Cuando hay plaquetas gigantes o «macrotrombocitos» [181, 242]. Las plaquetas gigantes se pueden presentar en enfermedades hereditarias como anomalía de May-Hegglin y el síndrome de Bernard-Soulier, o en enfermedades adquiridas como las neoplasias mieloproliferativas (leucemia mieloide crónica, trombocitemia esencial y policitemia vera) y el hiperesplenismo.
- Cuando hay tromboaglutininas [225, 243] o microcoagulación, que generalmente se debe a factores técnicos relacionados con la calidad de la muestra [10].
- Cuando hay factor reumatoide en pacientes con artritis reumatoide [244], el cual estimula la agregación *in vitro*.
- Cuando la muestra se toma en proximidad a una venoclisis [28].
- Cuando se toma la muestra, pero no se mezcla inmediatamente con el anticoagulante y se forman agregados plaquetarios [28].

### Seudotrombocitosis

La seudotrombocitosis (falso aumento de plaquetas) se presenta cuando el autoanализador confunde partículas que tienen un tamaño similar a las plaquetas [14]. Es posible que si esta situación no se detecta oportunamente, el paciente sea sometido a estudios complementarios, por ejemplo, estudio de medula ósea y a tratamientos innecesarios, como la anticoagulación, con consecuencias impredecibles. Entre las principales causas de seudotrombocitosis se encuentran:

- Llenado en exceso de los tubos o fallas en la mezcla [183], esta última se corrige en los autoanализadores que tienen automuestreador.
- Precipitados de inmunoglobulinas, crioproteínas o fibrinógeno, los cuales pueden formar pequeños grumos y ser contados como plaquetas [14, 245].
- Fragmentos de leucocitos, que pueden estar presentes en algunas neoplasias hematológicas y en infecciones severas [246-250].

- Síndrome de lisis tumoral, como en pacientes con neoplasias hematológicas [251].
- Presencia de microsferocitos en pacientes con esferocitosis hereditaria [252] o presencia de cuerpos de Pappenheimer en individuos anémicos [253].
- Presencia de bacterias [254, 255] o de restos de parásitos.

## ■ Volumen medio plaquetario

El volumen medio plaquetario corresponde al tamaño promedio de las plaquetas expresado en unidad de volumen, femtolitros (fL) [12, 13, 256, 257] y su determinación es exclusiva de los autoanalizadores de hematología [258], por lo que solo está disponible en los hemogramas tipo IV, V y VI de acuerdo con la clasificación de la Sociedad Colombiana de Patología Clínica [5].

### Valores de referencia

El valor de referencia para el volumen medio plaquetario, a título informativo, en una entidad privada de Medellín, Colombia [24], es de 6,5 fL a 13,5 fL [24]. Se debe insistir en el hecho de que cada laboratorio clínico defina sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población, la instrumentación, los factores que pueden modificar el valor esperado de un lugar a otro, de una institución a otra y de un instrumento a otro y otras consideraciones que puedan estar asociadas con la validez de resultado [20].

### Utilidad clínica

El volumen medio plaquetario define los conceptos de microtrombocito(sis), normotrombocito(sis) y macrotrombocito(sis) para referirse al tamaño de las plaquetas: disminuido, normal y aumentado, respectivamente. El volumen medio plaquetario, conjuntamente con el ancho de distribución de las plaquetas, es de utilidad en el estudio de los pacientes con enfermedades mieloproliferativas [259] y el diagnóstico diferencial de la trombocitosis [10].

Este es un parámetro que mide la función y la activación de las plaquetas, por lo que se podría afirmar que cuando está elevado es un signo de “regeneración plaquetaria”, como usualmente se presenta en pacientes con trombocitopenia por destrucción periférica de plaquetas, en cuyo caso característicamente aumenta la megacariocitopóyesis en la médula ósea [256, 260-263]. El incremento de la producción plaquetaria se expresa en el hemograma como plaquetas más grandes, que en los autoanalizadores de hematología de sexta generación corresponden a plaquetas inmaduras y a un porcentaje de plaquetas grandes (P-LCR) elevado [263], como se analizará más adelante.

Por su parte, cuando la trombocitopenia se debe a un defecto en la producción de plaquetas, el volumen medio plaquetario está disminuido [263], como sucede en los pacientes con sepsis [264], anemia aplásica [263, 265, 266], anemia perniciosa [267], leucemias agudas [268, 269], síndromes mielodisplásicos [270], estados avanzados de leucemia linfocítica crónica [271], leucemia de células peludas [272], hiperesplenismo [273] o en pacientes que termi-

naron recientemente esquemas de radioterapia o de quimioterapia. Se debe tener presente que cuando se utiliza el volumen medio plaquetario y el porcentaje de plaquetas inmaduras para el diagnóstico diferencial de la trombocitopenia, este último es más eficiente.

## Observaciones adicionales

En ocasiones, cuando hay trombocitopenia severa no se obtiene determinación del volumen medio plaquetario. Por otra parte, la elevación espuria del tamaño de las plaquetas se puede presentar en diferentes situaciones, como las que se citan a continuación.

- Efecto de los anticoagulantes utilizados de rutina, en particular el EDTA, que puede dar falso aumento en el volumen medio plaquetario a partir de los primeros 5 a 10 minutos [274,275], y el aumento puede llegar hasta un 50% a partir de la primera hora [276]. Esta alteración no se observa cuando se utiliza ACD (ácido-citrato-dextrosa) o citrato de sodio como anticoagulante [276] o cuando la muestra es mantenida a 37°C hasta el momento de ser analizada [275].
- Agregación de plaquetas [62], en cuyo caso también disminuye el recuento de plaquetas.

Se debe tener presente que a causa de este «error del contador», es posible que el paciente sea sometido a estudios complementarios e innecesarios, en especial si coexiste con seudotrombocitopenia.

## ■ Ancho de distribución de las plaquetas

El ancho de distribución de las plaquetas determina el grado de anisocitosis de las plaquetas [273] y corresponde al coeficiente de variación en el tamaño de las plaquetas, muy similar al ancho de distribución de los eritrocitos en el caso del eritrograma, que solo se puede obtener mediante autoanalizadores de hematología de última generación (hemograma tipo V y hemograma tipo VI). Además, el ancho de distribución de las plaquetas se correlaciona estrechamente con el recuento de las plaquetas y el volumen medio plaquetario [259].

## Valores de referencia

El valor de referencia del ancho de distribución de las plaquetas es de 15,4% a 16,8% [24]. Se debe insistir en el hecho de que cada laboratorio clínico defina sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población y la instrumentación que pueden modificar los parámetros de un lugar a otro y de una institución a otra [20].

## Utilidad clínica

Desde el punto de vista práctico, el ancho de distribución de las plaquetas es la forma electrónica para determinar el grado de anisocitosis plaquetaria (variaciones en el tamaño) de las plaquetas, que se correlaciona estrechamente con la morfología plaquetaria en los extendidos de sangre periférica [273]. El ancho de distribución de las plaquetas define los conceptos de homogeneidad y heterogeneidad plaquetaria, para referirse a la ausencia o presencia de anisocitosis plaquetaria, respectivamente.

El ancho de distribución de las plaquetas también es importante en el estudio de las enfermedades mieloproliferativas que cursan con trombocitosis [259] y en la anemia perniciosa [277], en donde característicamente está por encima de límite superior. En el caso de las trombocitopenias (disminución de las plaquetas), el ancho de distribución de las plaquetas carece de valor clínico [278], aunque en algunos estudios se ha observado que en las trombocitopenias por defectos en la producción, como la anemia aplásica, el ancho de distribución de las plaquetas es normal, pero en las trombocitopenias por destrucción periférica, como la trombocitopenia inmune, el ancho de distribución está elevado [263].

## Observaciones adicionales

Como se discutió para el volumen medio plaquetario, si transcurre mucho tiempo entre la toma de la muestra y la realización del hemograma, puede haber un aumento espurio del volumen plaquetario [28], que a su vez puede afectar el ancho de distribución de las plaquetas. De igual forma, la presencia de un gran número de esquistocitos, que pueden ser contados como plaquetas, puede afectar el ancho de distribución de las plaquetas, aunque este efecto se corrige en autoanalizadores que cuentan con recuento de plaquetas por dispersión óptica, como se discutió previamente. Por otra parte, la presencia de bacterias desviará la población plaquetaria hacia la izquierda en el histograma [28] y ello también se reflejaría en el ancho de distribución de los eritrocitos.

## ■ Plaquetocrito

Equivalente al hematocrito, el plaquetocrito es exclusivo del hemograma electrónico derivado de los autoanalizadores de hematología de última generación (hemograma tipo V y tipo VI). Se define como la relación entre el volumen de la masa plaquetaria y el volumen de sangre [10]. El parámetro se deriva de cálculos incorporados el software de estos instrumentos que relaciona el recuento de plaquetas con el volumen medio plaquetario, equivalente al hematocrito determinado en los hemogramas electrónicos [10].

## Valores de referencia

De acuerdo con Beyan y colaboradores, el valor de referencia para el plaquetocrito, oscila entre 0,085% y 0,287% [279]. En el medio aún no hay estudios que definan el valor de referencia del plaquetocrito la hemoglobina como se recomienda en las buenas prácticas de laboratorio [20].

## Utilidad clínica

Desde el punto de vista clínico, el plaquetocrito tiene poca, o quizás ninguna, utilidad clínica hasta ahora demostrada [262].

## ■ Porcentaje de plaquetas de tamaño grande

El porcentaje de plaquetas de tamaño grande, más conocido como P-LCR (por su significado en inglés *Platelets Large Cell Ratio*), se refiere a la proporción de plaquetas que tienen un

volumen superior a 12 fL. Este parámetro está disponible solo en algunos autoanalizadores de hematología de última generación como el Sysmex XE-2100 y otros modelos de esta compañía [263].

## Valor de referencia

El valor de referencia para el porcentaje de plaquetas de tamaño grande es de 17,5% a 42,3% en mujeres y de 18,5% a 42,3% en hombres [201]. En el medio aún no hay estudios que definan los valores de referencia para este parámetro como se recomienda en las buenas prácticas de laboratorio [20].

## Utilidad clínica

El porcentaje de plaquetas de tamaño grande, al igual que el volumen medio plaquetario y el ancho de distribución de las plaquetas, es de utilidad en la diferenciación de la etiología de la trombocitopenia (medular o periférica), ya que en casos de trombocitopenia por defectos en la producción, como la anemia aplásica, el P-LCR está disminuido, mientras que en trombocitopenias por destrucción periférica, como la trombocitopenia inmune, el P-LCR está elevado [263, 280]. En el caso de las trombocitosis, el P-LCR es más bajo en las trombocitosis de origen reactivo, mientras que es más alto en las trombocitosis de origen neoplásico, como los síndromes mieloproliferativos [281, 282].

## Observaciones adicionales

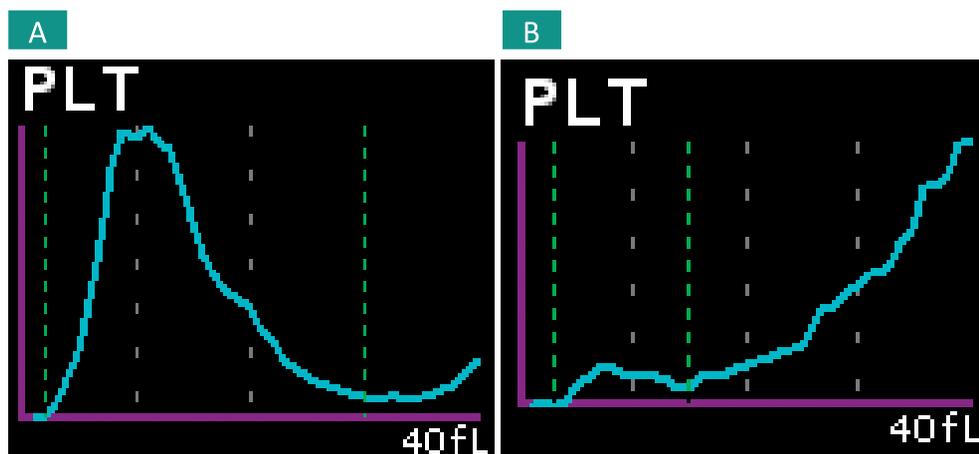
La principal limitante de la aplicación clínica del P-LCR es que es un parámetro dependiente del autoanalyzer de hematología que se emplee, por lo que no está disponible en todos los hemogramas tipo VI.

## ■ Histograma de plaquetas

Similar a los eritrocitos, el informe de los parámetros del trombograma se complementa con un histograma de eritrocitos, en el que se relaciona el volumen plaquetario en femtolitros con la cantidad de células. En condiciones normales, el histograma tiene forma de campana de Gauss y el pico más alto coincide con el volumen plaquetario medio [10].

## Utilidad clínica

El histograma de plaquetas tiene una relación estrecha con el volumen medio plaquetario y el recuento de plaquetas [10, 28]. Por ejemplo, si el volumen medio plaquetario está elevado por la presencia de macroplaquetas, el histograma se desvía a la derecha. De forma similar, cuando las plaquetas reticuladas o el porcentaje de plaquetas de tamaño grande están elevados, se puede observar una desviación a la derecha del histograma y es posible que al final del histograma la línea no toque el eje X, como se observa en la [figura 12-A](#). Cuando hay trombocitopenia severa también se afecta el histograma, ya que en ocasiones la campana no es tan pronunciada, como se observa en la [figura 12-B](#).



**Figura 12.** Algunas alteraciones del histograma de plaquetas y su relación con el volumen medio plaquetario y otros parámetros del trombograma. **A.** Macroplaquetas; aunque el paciente tiene un recuento normal (169.000/ $\mu\text{L}$ ), el volumen medio plaquetario, el ancho de distribución de las plaquetas, el P-LCR y las plaquetas reticuladas están elevadas (13,5 fL, 18,2 fL, 54% y 16,2%, respectivamente). **B.** Trombocitopenia severa (13.000/ $\mu\text{L}$ ); debido a la trombocitopenia severa, no se pudo calcular el volumen medio plaquetario. Laboratorio Clínico Hematológico. Medellín, Colombia.

## ■ Plaquetas reticuladas

También denominadas fracción de plaquetas inmaduras, corresponde a plaquetas jóvenes, de uno a dos días y con un alto contenido de ARN. Al igual que en los reticulocitos, el ARN se puede colorear con un fluorocromo y los autoanalizadores que tienen citómetro de flujo incorporado, son capaces de cuantificar la fluorescencia emitida [283], la cual es proporcional al contenido de ARN; por ello, las plaquetas inmaduras serán las que emiten más fluorescencia, como se observa en la [figura 13](#). El recuento de plaquetas reticuladas solo está incorporado a unos pocos autoanalizadores de hematología, entre ellos el Sysmex XE-2100® [10].

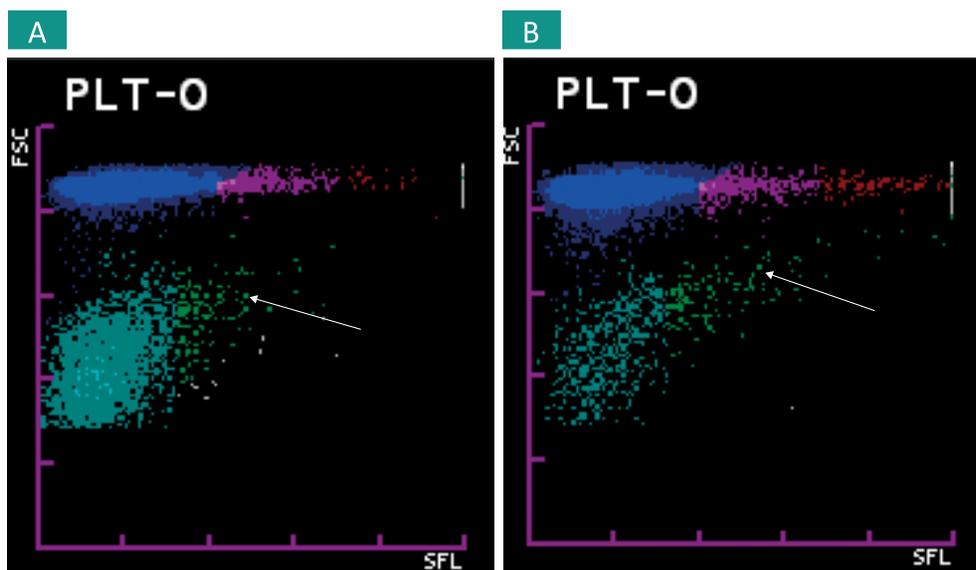
### Valores de referencia

De acuerdo con el estudio realizado por Abe y colaboradores, el valor de referencia de las plaquetas reticuladas es de  $0,48\% \pm 0,32$  en los hombres y  $0,48\% \pm 0,32$  en las mujeres [284]. En el medio aún no se tienen valores de referencia establecidos por lo novedoso de la tecnología.

### Utilidad clínica

El valor de las plaquetas reticuladas es particularmente útil en el diagnóstico diferencial de pacientes con trombocitopenia, en quienes se correlaciona en forma directa con la producción de plaquetas en la médula ósea y reflejan el estado clínico de la enfermedad [266, 285, 286].

Una de las indicaciones más importantes de las plaquetas reticuladas es el diagnóstico de la trombocitopenia inmune (anteriormente denominada como púrpura trombocitopénica idiopática), en cuyo caso están aumentadas [287, 288]; además, su cantidad aumenta en



**Figura 13.** Citograma de plaquetas del Sysmex XE-2100®. **A.** Citograma de plaquetas de un individuo hematológicamente sano, con plaquetas reticuladas (flecha) normales (4,5%). **B.** Citograma de plaquetas de un paciente con trombocitopenia inmune a causa de la infección por *Helicobacter pylori*. El recuento de plaquetas corresponde a 45.000/μL, las plaquetas reticuladas a 21,4% (flecha) y a causa de la trombocitopenia, no se obtuvo valor de volumen medio plaquetario, ancho de distribución de las plaquetas y P-LCR. Laboratorio Clínico Hematológico. Medellín, Colombia.

pacientes con microangiopatías trombóticas, como la púrpura trombocitopénica trombótica [289]. También es útil para el seguimiento de estos pacientes, ya que las plaquetas reticuladas disminuyen en pacientes con trombocitopenia inmune o púrpura trombocitopénica idiopática a medida que el tratamiento es exitoso y el recuento de plaquetas se normaliza [289].

Adicionalmente, al reflejar de formas temprana la producción medular de plaquetas, las plaquetas reticuladas son un predictor de la recuperación después de quimioterapia [290] o trasplante de progenitores hematopoyéticos [291]. Al predecir la recuperación medular, también es un criterio que puede ayudar a definir la indicación de transfusiones en pacientes con trombocitopenia profunda [123, 292].

Las plaquetas reticuladas también se relacionan con otras condiciones de origen no hematológico, como la arteriosclerosis y sus complicaciones [293, 294], incluido el síndrome coronario agudo [295]. También aumentan en pacientes con sepsis y son un indicador temprano de hemocultivo positivo [296].

## Observaciones adicionales

Las plaquetas reticuladas solo están disponibles en algunos autoanalizadores de hematología de última generación, como el Sysmex XE-2100® [79], aunque también se pueden identificar, mediante el uso de anticuerpos monoclonales y citometría de flujo, como una prueba de laboratorio independiente [266, 285, 286, 297, 298].

## Conclusiones

De los hemogramas automatizados disponibles, el médico debe solicitar el que le ofrezca la mayor certeza en los valores reportados, que serían idealmente los tipos V o VI. Ello se debe a que a medida que mejora el desarrollo tecnológico, se perfecciona tanto la identificación celular como el desempeño analítico de una prueba, lo que favorece una mejor aproximación al diagnóstico y tratamiento de los pacientes. El laboratorio clínico, por pequeño que sea, debe invertir en esta tecnología, de forma que le permita ofrecer los resultados con el más bajo coeficiente de variación.

Es así, como el hemograma tipo VI, además de ofrecer resultados de gran precisión y exactitud, entrega nuevos parámetros que no están disponibles en sus predecesores, pero que son de gran aplicación clínica, no solo en el diagnóstico hematológico, sino en el pronóstico de pacientes con enfermedades infecciosas, cardiovasculares e inflamatorias, entre otras. De los nuevos parámetros disponibles, sin duda los que resultan más atractivos desde el punto de vista clínico son la fracción de reticulocitos inmaduros, la hemoglobina reticulocitaria y la fracción de las plaquetas inmaduras, ya que el primero permite identificar la recuperación medular y la respuesta frente a procesos anémicos [123, 130, 132, 299], la segunda es una prueba tamiz para la deficiencia de hierro y el dopaje por eritropoyetina [139, 141-145, 152-155] y la tercera ayuda a discernir el origen de las trombocitopenias (periférico o medular) y a identificar una rápida recuperación medular después de la quimioterapia o el trasplante de progenitores hematopoyéticos [288-291].

De igual forma, el hecho de contar con un recuento diferencial de leucocitos extendido, en el que se cuantifiquen los granulocitos inmaduros y se identifiquen y cuantifiquen los eritroblastos circulantes con corrección automática del recuento diferencial de los leucocitos, ha mejorado enormemente la utilidad de los recuentos diferenciales automatizados, su desempeño analítico y su utilidad clínica [156, 198]. Adicionalmente, la posibilidad de sospechar de una infección, como la malaria, en muestras analizadas en autoanalizadores de Sysmex®, hace que cada vez sea más imprescindible la incorporación de autoanalizadores de hematología de última generación a los laboratorios clínicos del país, teniendo en cuenta que la malaria es un problema de salud pública en Colombia y que los hemogramas procesados en estos equipos permiten sospechar la infección, incluso antes de que se confirme el diagnóstico por gota gruesa [219, 220, 222, 223].

Por otra parte, como se observó en el eritrograma, el leucograma y el trombograma, los autoanalizadores de hematología, además de la información relacionada con las mediciones o los cálculos, incluyen alarmas e información gráfica, cada vez más compleja, entre ellos histogramas, dispersogramas y citogramas, como los que se han presentado a lo largo del presente módulo [10, 156, 196, 218].

Si bien estos elementos no son una parte integral y constante del informe que se entrega al clínico, son una herramienta fundamental para los profesionales del laboratorio clínico que observan el extendido, ya que las alarmas en muchas ocasiones orientan el diagnóstico y las posibles alteraciones que están presentes en sangre periférica. No obstante, se debe tener en cuenta que algunas alarmas pueden corresponder a resultados espurios, que no se relacionan con la clínica del paciente [14] y que algunas alteraciones, especialmente las morfológicas, no son reconocidas por los autoanalizadores, como se resume en la [tabla 13](#), lo que

**Tabla 13. Lo que los autoanalizadores de hematología no detectan**

Componente	Alteración
Eritrograma	Policromasia Poiquilocitosis Inclusiones (cuerpos de Howel-Jolly, punteado basófilo, anillos de Cabot, cuerpos de Pappenheimer) Eritroblastos < 5%, según el autoanalizador Fenómeno de Rouleaux Macroovalocitos Esquistocitos, según el autoanalizador
Leucograma	Desviación a la izquierda, según el autoanalizador Anomalía de Pelger-Huët Granulaciones tóxicas Cuerpos de Döhle Plasmocitos, según el autoanalizador Linfocitos atípicos, según la cantidad y el autoanalizador Linfocitos leucémicos en bajo número Linfocitos con granulación o vacuolización anormales Células peludas Malaria, según el autoanalizador Babesiosis
Trombograma	Agregación, cuando es discreta, la agregación acentuada siempre causa alarma Satelitismo plaquetario, hay trombocitopenia sin alarma de satelitismo

conlleva a un falso negativo y a errores en el diagnóstico si el hemograma no se integra con el extendido de sangre periférica. Es por ello, que se debe contar con indicaciones precisas sobre las situaciones en las que la revisión del extendido de sangre periférica más que una opción, es una obligación [300-302].

Por motivos ajenos al objetivo de este módulo, en el medio no se le ha dado la verdadera utilización a la información gráfica, ya que la mayoría de los laboratorios clínicos que disponen de esta tecnología se limitan a anexarlos como parte integral de los resultados del hemograma, en muchos casos en «bruto» como sale del instrumento, inclusive con las siglas sin traducción y sin interpretación alguna, de forma que solo se convierten en una fuente de confusión y de desinformación, más que de información y utilidad clínica [14, 303].

Por más sencillo que sea un autoanalizador de hematología, si se hace una correcta interpretación de la información gráfica, se cuenta con una herramienta más para orientar y realizar un diagnóstico acertado. Más importante que anexarlos a los resultados del hemograma, es utilizarlos e interpretarlos en el laboratorio y correlacionarlos con los valores informados por la máquina y con los hallazgos en los extendidos de sangre periférica [14, 303].

Para finalizar, el hemograma, al ser una de las pruebas más solicitadas en el laboratorio clínico, debe contar con todo el respaldo tecnológico y analítico, que garanticen la mayor aplicabilidad clínica posible. No obstante, para lograrlo se requiere el compromiso del bacteriólogo, enfermero o auxiliar de laboratorio que toma la muestra, del bacteriólogo que lo realiza y revisa el extendido, y del médico que recibe el informe y lo interpreta.

## Bibliografía

- Guidelines for the evaluation of blood cell analysers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting and cell marker applications.** International Council for Standardization in Haematology; prepared by the ICSH Expert Panel on Cytometry. *Clin Lab Haematol* 1994; 16: 157-174.
- Gulati GL, Hyun BH.** The automated CBC. A current perspective. *Hematol Oncol Clin North Am* 1994; 8: 593-603.
- Perkins SL.** Examination of the blood and bone marrow. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, eds. *Wintrobe's clinical hematology* (ed 11th Edition). Philadelphia, PA, USA: Lipincott Williams & Wilkins; 2004: 1-25.
- Imeri F, Herklotz R, Risch L, Arbetsleitner C, Zerlauth M, Risch GM, et al.** Stability of hematological analytes depends on the hematology analyser used: A stability study with Bayer Advia 120, Beckman Coulter LH 750 and Sysmex XE 2100. *Clin Chim Acta* 2008.
- Sociedad Colombiana de Patología Clínica.** Manual de Codificación, Nomenclatura, Nivelación y Valores de Exámenes de laboratorio Clínico. Medellín, Colombia: Edimeco S.A.; 2007.
- República de Colombia, Ministerio de Protección Social.** Resolución 1896 de 2001 por la cual se sustituye integralmente la Clasificación Única de Procedimientos en Salud.
- Ruzicka K, Veitl M, Thalhammer-Scherrer R, Schwarzwinger I.** The new hematology analyzer Sysmex XE-2100: performance evaluation of a novel white blood cell differential technology. *Arch Pathol Lab Med* 2001; 125: 391-396.
- Briggs C, Harrison P, Grant D, Staves J, MacHin SJ.** New quantitative parameters on a recently introduced automated blood cell counter--the XE 2100. *Clin Lab Haematol* 2000; 22: 345-350.
- Sociedad Colombiana de Patología Clínica.** Manual de Codificación, Nomenclatura, Nivelación y Valores de Exámenes de Laboratorio Clínico. Medellín, Colombia: Edimeco S.A.; 2013.
- Campuzano-Maya G.** Del hemograma manual al hemograma de cuarta generación. *Medicina & Laboratorio* 2007; 133: 511-550.
- Campuzano-Maya G.** Uso y utilidad clínica de la eritrosedimentación. *Medicina & Laboratorio* 2000; 9: 311-346.
- Campuzano-Maya G.** El hemograma electrónico. *Laboratorio Al Día* 1995; 5: 28-41.
- Campuzano-Maya G.** El hemograma. *Medicina & Laboratorio* 1998; 8: 19-32.
- Campuzano-Maya G.** Alteraciones del hemograma relacionadas con los contadores de células. *Medicina & Laboratorio* 2005; 11: 363-384.
- Campuzano-Maya G.** ¿Cómo obtener un extendido de sangre periférica de óptima calidad? *Medicina & Laboratorio* 2008; 14: 125-145.
- Campuzano-Maya G.** Utilidad clínica del extendido de sangre periférica: los eritrocitos. *Medicina & Laboratorio* 2008; 14: 311-357.
- Campuzano-Maya G.** Utilidad clínica del extendido de sangre periférica. Parte 2 de 2: los leucocitos y las plaquetas. *Medicina & Laboratorio* 2008; 14: 411-xx.
- Campuzano-Maya G.** Utilidad clínica del extendido de sangre periférica: las plaquetas. *Medicina & Laboratorio* 2008; 14: 511-531.
- Kim SJ, Kim Y, Shin S, Song J, Choi JR.** Comparison study of the rates of manual peripheral blood smear review from 3 automated hematology analyzers, Unicel DxH 800, ADVIA 2120i, and XE 2100, using international consensus group guidelines. *Arch Pathol Lab Med* 2012; 136: 1408-1413.
- Pincus MR, Abraham NZ.** Interpreting laboratory results. In: McPherson RA, Pincus MR, eds. *Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods* (ed 21th edition): Saunders Elsevier; 2007: 76-90.
- Cartwright GE.** *Diagnostic Laboratory Hematology* (ed 3th ed.). New York, USA, 1963.: Grune and Stratton.
- Coulter WH.** Means for counting particles suspended in a fluid. Vol. U. S. Patent No. 2656508. USA; 1953.
- Bonner WA, Hulett HR, Sweet RG, Herzenberg LA.** Fluorescence activated cell sorting. *Rev Sci Instrum* 1972; 43: 404-409.
- Laboratorio Clínico Hematológico.** Manual de procedimientos. 2007, Medellín, Colombia.
- Wintrobe MM.** The size and hemoglobin content of the erythrocyte. *J Lab Clin Med* 1932; 17: 899-911.
- Bain BJ, Lewis SM, Bates I.** Basic haematological techniques. In: Lewis SM, Bain BJ, Bates I, eds. *Dacie and Lewis practical haematology* (ed 5th edition). Philadelphia, PA, USA: Churchill Livingstone; 2006: 26-57.
- Zandecki M, Genevieve F, Gerard J, Godon A.** Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part II: white blood cells, red blood cells, haemoglobin, red cell indices and reticulocytes. *Int J Lab Hematol* 2007; 29: 21-41.
- Zandecki M, Genevieve F, Gerard J, Godon A.** Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part I: platelets. *Int J Lab Hematol* 2007; 29: 4-20.
- Dickson DN, Wilkinson RL, Noakes TD.** Effects of ultra-marathon training and racing on hematologic

- parameters and serum ferritin levels in well-trained athletes. *Int J Sports Med* 1982; 3: 111-117.
30. **Chatard JC, Mujika I, Guy C, Lacour JR.** Anaemia and iron deficiency in athletes. Practical recommendations for treatment. *Sports Med* 1999; 27: 229-240.
  31. **Kresie L, Benavides D, Bollinger P, Walters J, Pierson D, Richmond T, et al.** Performance evaluation of the application of body fluids on the Sysmex XE-2100 series automated hematology analyzer. *Lab Hematol* 2005; 11: 24-30.
  32. **Perkins SL.** Examination of the blood and bone marrow. In: Greer JP, Foerster J, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, Arber DA, et al., eds. *Wintrobe's clinical hematology* (ed 12th). Philadelphia, PA, USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2009: 1-20.
  33. **World Health Organization.** Recommended method for the determination of packed cell volume by centrifugation (prepared by Expert Panel on cytometry of the International Council for WHO/DIL/00. WHO, Geneva 2000; 1: 1-9.
  34. **Wintrobe MM.** Anemia: Classification and treatment on the basis of differences in the average volume and hemoglobin content of the red corpuscles. *Arch Intern Med* 1934; 54: 256-261.
  35. **Tsuda I, Tatsumi N, Zhang Z, Kubota H, Takubo T.** Evaluation of Coulter's cyanide-free reagent for hemoglobinometry. *Lab Hematol* 1998; 4: 276-280.
  36. **Nakul-Aquarone D, Sudaka-Sammarcelli I, Ferrero-Vacher C, Starck B, Bayle J.** Evaluation of the Sysmex XE-2100 hematology analyzer in hospital use. *J Clin Lab Anal* 2003; 17: 113-123.
  37. **Beutler E, Waalen J.** The definition of anemia: what is the lower limit of normal of the blood hemoglobin concentration? *Blood* 2006; 107: 1747-1750.
  38. **WHO.** Haemoglobin concentrations for the diagnosis of anaemia and assessment of severity. Vitamin and Mineral Nutrition Information System. Geneva, World Health Organization, 2011 (WHO/NMH/NHD/MNM/11.1) (<http://www.who.int/vmnis/indicators/haemoglobin.pdf>, Consultado en enero 15 de 2013.
  39. **Nosanchuk JS, Roark MF, Wanser C.** Anemia masked by triglyceridemia. *Am J Clin Pathol* 1974; 62: 838-839.
  40. **Shah PC, Patel AR, Rao KR.** Letter: Hyperlipemia and spuriously elevated hemoglobin values. *Ann Intern Med* 1975; 82: 383.
  41. **Gagne C, Auger PL, Moorjani S, Brun D, Lupien PJ.** Effect of hyperchylomicronemia on the measurement of hemoglobin. *Am J Clin Pathol* 1977; 68: 584-586.
  42. **Kroll MH, Elin RJ.** Interference with clinical laboratory analyses. *Clin Chem* 1994; 40: 1996-2005.
  43. **Linz LJ.** Elevation of hemoglobin, MCH, and MCHC by paraprotein: how to recognize and correct the interference. *Clin Lab Sci* 1994; 7: 211-212.
  44. **Simmons A.** Blood storage. *Am J Clin Pathol* 1982; 77: 116-117.
  45. **Schoentag RA.** Hematology analyzers. *Clin Lab Med* 1988; 8: 653-673.
  46. **Bentley SA, Johnson A, Bishop CA.** A parallel evaluation of four automated hematology analyzers. *Am J Clin Pathol* 1993; 100: 626-632.
  47. **Lampasso JA.** Changes in hematologic values induced by storage of ethylenediaminetetraacetate human blood for varying periods of time. *Am J Clin Pathol* 1968; 49: 443-447.
  48. **Cornbleet J.** Spurious results from automated hematology cell analyzers. *Lab Med* 1983; 14: 509-514.
  49. **Bessman JD, Gilmer PR, Jr., Gardner FH.** Improved classification of anemias by MCV and RDW. *Am J Clin Pathol* 1983; 80: 322-326.
  50. **Hodges RE, Sauberlich HE, Canham JE, Wallace DL, Rucker RB, Mejia LA, et al.** Hematopoietic studies in vitamin A deficiency. *Am J Clin Nutr* 1978; 31: 876-885.
  51. **Garcia-Casal MN, Layrisse M, Solano L, Baron MA, Arguello F, Llovera D, et al.** Vitamin A and beta-carotene can improve nonheme iron absorption from rice, wheat and corn by humans. *J Nutr* 1998; 128: 646-650.
  52. **West MS, Wethers D, Smith J, Steinberg M.** Laboratory profile of sickle cell disease: a cross-sectional analysis. The Cooperative Study of Sickle Cell Disease. *J Clin Epidemiol* 1992; 45: 893-909.
  53. **Ballas SK, Larner J, Smith ED, Surrey S, Schwartz E, Rappaport EF.** The xerocytosis of Hb SC disease. *Blood* 1987; 69: 124-130.
  54. **Reed GF, Lynn F, Meade BD.** Use of coefficient of variation in assessing variability of quantitative assays. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9: 1235-1239.
  55. **England JM, Walford DM, Waters DA.** Re-assessment of the reliability of the haematocrit. *Br J Haematol* 1972; 23: 247-256.
  56. **Holt JT, DeWandler MJ, Arvan DA.** Spurious elevation of the electronically determined mean corpuscular volume and hematocrit caused by hyperglycemia. *Am J Clin Pathol* 1982; 77: 561-567.
  57. **Strauchen JA, Alston W, Anderson J, Gustafson Z, Fajardo LF.** Inaccuracy in automated measurement of hematocrit and corpuscular indices in the presence of severe hyperglycemia. *Blood* 1981; 57: 1065-1067.
  58. **Beautyman W, Bills T.** Osmotic error in erythrocyte volume determinations. *Am J Hematol* 1982; 12: 383-389.
  59. **Williams LJ.** Cell histograms: New trends in data interpretation and classification. *J Med Technol* 1984; 1: 189.
  60. **Tur-Kaspa R, Levo Y.** Spurious macrocytic anemia. *Acta Haematol* 1979; 61: 57-58.
  61. **Bessman JD, Banks D.** Spurious macrocytosis, a common clue to erythrocyte cold agglutinins. *Am J Clin Pathol* 1980; 74: 797-800.

62. **Solanki DL, Blackburn BC.** Spurious leukocytosis and thrombocytopenia. A dual phenomenon caused by clumping of platelets *in vitro*. *Jama* 1983; 250: 2514-2515.
63. **Weiss GB, Bessman JD.** Spurious automated red cell values in warm autoimmune hemolytic anemia. *Am J Hematol* 1984; 17: 433-435.
64. **Gleeson SE, McSherry JA.** Spurious macrocytosis in infectious mononucleosis. *Can Med Assoc J* 1983; 129: 1260-1261.
65. **Moridaira K, Murakami H, Kitahara T, Tamura J, Matsushima T, Sawamura M, et al.** Spurious macrocytosis associated with non-Hodgkin's lymphoma: report of two cases. *Ann Hematol* 1993; 66: 55-56.
66. **Beautyman W, Bills T.** Letter: Osmotic error in measurements of red-cell volume. *Lancet* 1974; 2: 905-906.
67. **Savage RA, Hoffman GC.** Clinical significance of osmotic matrix errors in automated hematology: the frequency of hyperglycemic osmotic matrix errors producing spurious macrocytosis. *Am J Clin Pathol* 1983; 80: 861-865.
68. **Planas AT, Van Voolen GA, Kelly LA.** Hyperglycemic macrocytosis in electronically determined mean corpuscular volume. Use of three different automatic cell counters. *Ann Clin Lab Sci* 1985; 15: 286-291.
69. **Beautyman W, Bills T.** Osmotic error in red cell measurements of red cell. *Lancet* 1974; 2: 905-906.
70. **Cornbleet J.** Spurious results from automated hematology cell counters. *Lab Med* 1983; 14: 501-514.
71. **Imeri F, Herklotz R, Risch L, Arbetsleitner C, Zerlauth M, Risch GM, et al.** Stability of hematological analytes depends on the hematology analyser used: a stability study with Bayer Advia 120, Beckman Coulter LH 750 and Sysmex XE 2100. *Clin Chim Acta* 2008; 397: 68-71.
72. **Brittin GM, Brecher G, Johnson CA, Stuart J.** Spurious macrocytosis of antibody-coated red cells. *Tech Bull Regist Med Technol* 1969; 39: 149-153.
73. **Patel KJ, Hughes CG, Parapia LA.** Pseudoleucocytosis and pseudothrombocytosis due to cryoglobulinaemia. *J Clin Pathol* 1987; 40: 120-121.
74. **Groner W, Simson E.** Practical guide to modern hematology analyzers. Chichester, UK: John Wiley and Sons; 1995.
75. **Koenn ME, Kirby BA, Cook LL, Hare JL, Hall SH, Barry PM, et al.** Comparison of four automated hematology analyzers. *Clin Lab Sci* 2001; 14: 238-242.
76. **Cynober T, Mohandas N, Tchernia G.** Red cell abnormalities in hereditary spherocytosis: relevance to diagnosis and understanding of the variable expression of clinical severity. *J Lab Clin Med* 1996; 128: 259-269.
77. **Michaels LA, Cohen AR, Zhao H, Raphael RI, Manno CS.** Screening for hereditary spherocytosis by use of automated erythrocyte indexes. *J Pediatr* 1997; 130: 957-960.
78. **Perkins SL.** Pediatric red cell disorders and pure red cell aplasia. *Am J Clin Pathol* 2004; 122 Suppl: S70-86.
79. **D'Onofrio G, Mistretta G, Giordano G, Zini G.** Erythropoietic function assessment: Development of methodology-the Sysmex XE-2100TM. *Infusion Therapy and Transfusion Medicine* 2001; 28: 285-291.
80. **Walters JG, Garrity PF.** RDW-SD and RDW-CV: Their relationship to RBC distribution curves and anisocytosis. *Sysmex J Intern* 1993; 3: 40-46.
81. **Bain BJ.** Blood cells. A practical guide (ed 4th ed). Malden, Massachusetts USA: Blackwell Publishing; 2006.
82. **Campuzano-Maya G.** Aproximación al diagnóstico etiológico del paciente con anemia. *Laboratorio al Día* 1995; 5: 195-204.
83. **Campuzano-Maya G.** Cómo llegar al diagnóstico etiológico del paciente con anemia. *Anales de la Academia de Medicina de Medellín* 1996; 9: 29-36.
84. **Hammersley MW, King RV, Sillivant RE, Liu PI, Teaford MJ, Crook L, et al.** High erythrocyte distribution values and possibilities of hemoglobinopathies. *Am J Clin Pathol* 1981; 75: 370-372.
85. **Bessman D, Feinstein D.** Anisocytosis shows difference between iron deficiency and thalassemia. *Blood* 1980; 55: 167.
86. **Campuzano-Maya G.** Anemia perniciosa. *Medicina & Laboratorio* 1997; 7: 679-694.
87. **Lin CK, Lin JS, Chen SY, Jiang ML, Chiu CF.** Comparison of hemoglobin and red blood cell distribution width in the differential diagnosis of microcytic anemia. *Arch Pathol Lab Med* 1992; 116: 1030-1032.
88. **Roberts GT, El Badawi SB.** Red blood cell distribution width index in some hematologic diseases. *Am J Clin Pathol* 1985; 83: 222-226.
89. **Tziakas D, Chalikiak G, Grapsa A, Gioka T, Tentis I, Konstantinides S.** Red blood cell distribution width: a strong prognostic marker in cardiovascular disease: is associated with cholesterol content of erythrocyte membrane. *Clin Hemorheol Microcirc* 2012; 51: 243-254.
90. **Felker GM, Allen LA, Pocock SJ, Shaw LK, McMurray JJ, Pfeffer MA, et al.** Red cell distribution width as a novel prognostic marker in heart failure: data from the CHARM Program and the Duke Databank. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50: 40-47.
91. **Tonelli M, Sacks F, Arnold M, Moye L, Davis B, Pfeffer M.** Relation between red blood cell distribution width and cardiovascular event rate in people with coronary disease. *Circulation* 2008; 117: 163-168.
92. **Ani C, Ovbiagele B.** Elevated red blood cell distribution width predicts mortality in persons with known stroke. *J Neurol Sci* 2009; 277: 103-108.
93. **Hampole CV, Mehrotra AK, Thenappan T, Gomberg-Maitland M, Shah SJ.** Usefulness of red cell

- distribution width as a prognostic marker in pulmonary hypertension. *Am J Cardiol* 2009; 104: 868-872.
94. **Azab B, Torbey E, Hatoum H, Singh J, Khoueiry G, Bakhir R, et al.** Usefulness of red cell distribution width in predicting all-cause long-term mortality after non-ST-elevation myocardial infarction. *Cardiology* 2011; 119: 72-80.
  95. **Ye Z, Smith C, Kullo IJ.** Usefulness of red cell distribution width to predict mortality in patients with peripheral artery disease. *Am J Cardiol* 2011; 107: 1241-1245.
  96. **Zorlu A, Bektasoglu G, Guven FM, Dogan OT, Gucuk E, Ege MR, et al.** Usefulness of admission red cell distribution width as a predictor of early mortality in patients with acute pulmonary embolism. *Am J Cardiol* 2012; 109: 128-134.
  97. **Gul M, Uyarel H, Ergelen M, Karacimen D, Ugur M, Turer A, et al.** The relationship between red blood cell distribution width and the clinical outcomes in non-ST elevation myocardial infarction and unstable angina pectoris: a 3-year follow-up. *Coron Artery Dis* 2012; 23: 330-336.
  98. **Oh J, Kang SM, Won H, Hong N, Kim SY, Park S, et al.** Prognostic value of change in red cell distribution width 1 month after discharge in acute decompensated heart failure patients. *Circ J* 2012; 76: 109-116.
  99. **Van Craenenbroeck EM, Pelle AJ, Beckers PJ, Possemiers NM, Ramakers C, Vrints CJ, et al.** Red cell distribution width as a marker of impaired exercise tolerance in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2012; 14: 54-60.
  100. **Kim J, Kim YD, Song TJ, Park JH, Lee HS, Nam CM, et al.** Red blood cell distribution width is associated with poor clinical outcome in acute cerebral infarction. *Thromb Haemost* 2012; 108: 349-356.
  101. **Aung N, Ling HZ, Cheng AS, Aggarwal S, Flint J, Mendonca M, et al.** Expansion of the red cell distribution width and evolving iron deficiency as predictors of poor outcome in chronic heart failure. *Int J Cardiol* 2013.
  102. **Warwick R, Mediratta N, Shaw M, McShane J, Pullan M, Chalmers J, et al.** Red cell distribution width and coronary artery bypass surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 2012.
  103. **Ephrem G, Kanei Y.** Elevated red blood cell distribution width is associated with higher recourse to coronary artery bypass graft. *Cardiology* 2012; 123: 135-141.
  104. **Fatemi O, Paranilam J, Rainow A, Kennedy K, Choi J, Cutlip D, et al.** Red cell distribution width is a predictor of mortality in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *J Thromb Thrombolysis* 2013; 35: 57-64.
  105. **Hong N, Oh J, Kang SM, Kim SY, Won H, Youn JC, et al.** Red blood cell distribution width predicts early mortality in patients with acute dyspnea. *Clin Chim Acta* 2012; 413: 992-997.
  106. **Tanindi A, Topal FE, Topal F, Celik B.** Red cell distribution width in patients with prehypertension and hypertension. *Blood Press* 2012; 21: 177-181.
  107. **Lou Y, Wang M, Mao W.** Clinical usefulness of measuring red blood cell distribution width in patients with hepatitis B. *PLoS One* 2012; 7: e37644.
  108. **Ku NS, Kim HW, Oh HJ, Kim YC, Kim MH, Song JE, et al.** Red blood cell distribution width is an independent predictor of mortality in patients with gram-negative bacteremia. *Shock* 2012; 38: 123-127.
  109. **Jo YH, Kim K, Lee JH, Kang C, Kim T, Park HM, et al.** Red cell distribution width is a prognostic factor in severe sepsis and septic shock. *Am J Emerg Med* 2013.
  110. **Braun E, Domany E, Kenig Y, Mazor Y, Makhoul BF, Azzam ZS.** Elevated red cell distribution width predicts poor outcome in young patients with community acquired pneumonia. *Crit Care* 2011; 15: R194.
  111. **Lee JH, Chung HJ, Kim K, Jo YH, Rhee JE, Kim YJ, et al.** Red cell distribution width as a prognostic marker in patients with community-acquired pneumonia. *Am J Emerg Med* 2013; 31: 72-79.
  112. **Spell DW, Jones DV, Jr., Harper WF, Bessman JD.** The value of a complete blood count in predicting cancer of the colon. *Cancer Detect Prev* 2004; 28: 37-42.
  113. **Harmanci O, Kav T, Sivri B.** Red cell distribution width can predict intestinal atrophy in selected patients with celiac disease. *J Clin Lab Anal* 2012; 26: 497-502.
  114. **Senol K, Saylam B, Kocaay F, Tez M.** Red cell distribution width as a predictor of mortality in acute pancreatitis. *Am J Emerg Med* 2013.
  115. **Garbharran U, Chinthapalli S, Hopper I, George M, Back DL, Dockery F.** Red cell distribution width is an independent predictor of mortality in hip fracture. *Age Ageing* 2012.
  116. **Oh HJ, Park JT, Kim JK, Yoo DE, Kim SJ, Han SH, et al.** Red blood cell distribution width is an independent predictor of mortality in acute kidney injury patients treated with continuous renal replacement therapy. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27: 589-594.
  117. **Perlstein TS, Weuve J, Pfeffer MA, Beckman JA.** Red blood cell distribution width and mortality risk in a community-based prospective cohort. *Arch Intern Med* 2009; 169: 588-594.
  118. **Patel KV, Ferrucci L, Ershler WB, Longo DL, Guralnik JM.** Red blood cell distribution width and the risk of death in middle-aged and older adults. *Arch Intern Med* 2009; 169: 515-523.
  119. **Patel KV, Semba RD, Ferrucci L, Newman AB, Fried LP, Wallace RB, et al.** Red cell distribution width and mortality in older adults: a meta-analysis. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2010; 65: 258-265.
  120. **de Gonzalo-Calvo D, de Luxan-Delgado B, Martinez-Cambolor P, Rodriguez-Gonzalez S, Garcia-Macia M, Suarez FM, et al.** Chronic inflammation as predictor of 1-year hospitalization and mortality in elderly population. *Eur J Clin Invest* 2012; 42: 1037-1046.

121. **Martinez-Velilla N, Ibanez B, Cambra K, Alonso-Renedo J.** Red blood cell distribution width, multimorbidity, and the risk of death in hospitalized older patients. *Age (Dordr)* 2012; 34: 717-723.
122. **Malandrino N, Wu WC, Taveira TH, Whitlatch HB, Smith RJ.** Association between red blood cell distribution width and macrovascular and microvascular complications in diabetes. *Diabetologia* 2012; 55: 226-235.
123. **Buttarelli M, Plebani M.** Automated blood cell counts: state of the art. *Am J Clin Pathol* 2008; 130: 104-116.
124. **D'Onofrio G, Kim YR, Schulze S, Lorentz T, Dorner K, Goossens W, et al.** Evaluation of the Abbott Cell Dyn 4000 automated fluorescent reticulocyte measurements: comparison with manual, FACScan and Sysmex R1000 methods. *Clin Lab Haematol* 1997; 19: 253-260.
125. **Sica S, Sora F, Laurenti L, Piccirillo N, Salutari P, Chiusolo P, et al.** Highly fluorescent reticulocyte count predicts haemopoietic recovery after immunosuppression for severe aplastic anaemia. *Clin Lab Haematol* 1999; 21: 387-389.
126. **Savage RA, Skoog DP, Rabinovitch A.** Analytic inaccuracy and imprecision in reticulocyte counting: a preliminary report from the College of American Pathologists Reticulocyte Project. *Blood Cells* 1985; 11: 97-112.
127. **Briggs C, Bain BJ.** Basic haematological techniques. In: Bain BJ, Bates I, Laffan MA, Lewis SM, eds. *Dacie and Lewis Practical Haematology* (ed 11th edition): Churchill Livingstone Elsevier; 2012.
128. **Kim A, Park J, Kim M, Lim J, Oh EJ, Kim Y, et al.** Correction of pseudoreticulocytosis in leukocytosis samples using the Sysmex XE-2100 analyzer depends on the type and number of white blood cells. *Ann Lab Med* 2012; 32: 392-398.
129. **Lippi G, Pavesi F, Cattabiani C, Avanzini P, Pipitone S.** Influence of in vitro hemolysis on nucleated red blood cells and reticulocyte counts. *Int J Lab Hematol* 2012.
130. **Torres A, Sanchez J, Lakomsky D, Serrano J, Alvarez MA, Martin C, et al.** Assessment of hematologic progenitor engraftment by complete reticulocyte maturation parameters after autologous and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica* 2001; 86: 24-29.
131. **Noronha JF, De Souza CA, Vigorito AC, Aranha FJ, Zulli R, Miranda EC, et al.** Immature reticulocytes as an early predictor of engraftment in autologous and allogeneic bone marrow transplantation. *Clin Lab Haematol* 2003; 25: 47-54.
132. **Yesmin S, Sultana T, Roy CK, Rahman MQ, Ahmed AN.** Immature reticulocyte fraction as a predictor of bone marrow recovery in children with acute lymphoblastic leukaemia on remission induction phase. *Bangladesh Med Res Counc Bull* 2011; 37: 57-60.
133. **Mullier F, Lainey E, Fenneteau O, Da Costa L, Schilinger F, Bailly N, et al.** Additional erythrocytic and reticulocytic parameters helpful for diagnosis of hereditary spherocytosis: results of a multicentre study. *Ann Hematol* 2011; 90: 759-768.
134. **D'Onofrio G, Tichelli A, Foures C, Theodorsen L.** Indicators of haematopoietic recovery after bone marrow transplantation: the role of reticulocyte measurements. *Clin Lab Haematol* 1996; 18 Suppl 1: 45-53.
135. **Graziutti ML, Dong L, Miceli MH, Cottler-Fox M, Krishna SG, Fassas A, et al.** Recovery from neutropenia can be predicted by the immature reticulocyte fraction several days before neutrophil recovery in autologous stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 2006; 37: 403-409.
136. **Huh J, Moon H, Chung W.** Erroneously elevated immature reticulocyte counts in leukemic patients determined using a Sysmex XE-2100 hematology analyzer. *Ann Hematol* 2007; 86: 759-762.
137. **Canals C, Remacha AF, Sarda MP, Piazuolo JM, Royo MT, Romero MA.** Clinical utility of the new Sysmex XE 2100 parameter - reticulocyte hemoglobin equivalent - in the diagnosis of anemia. *Haematologica* 2005; 90: 1133-1134.
138. **Brugnara C, Schiller B, Moran J.** Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret He) and assessment of iron-deficient states. *Clin Lab Haematol* 2006; 28: 303-308.
139. **Brugnara C, Laufer MR, Friedman AJ, Bridges K, Platt O.** Reticulocyte hemoglobin content (CHR): early indicator of iron deficiency and response to therapy. *Blood* 1994; 83: 3100-3101.
140. **Mast AE, Blinder MA, Dietzen DJ.** Reticulocyte hemoglobin content. *Am J Hematol* 2008; 83: 307-310.
141. **Brugnara C, Zelmanovic D, Sorette M, Ballas SK, Platt O.** Reticulocyte hemoglobin: an integrated parameter for evaluation of erythropoietic activity. *Am J Clin Pathol* 1997; 108: 133-142.
142. **Brugnara C.** Use of reticulocyte cellular indices in the diagnosis and treatment of hematological disorders. *Int J Clin Lab Res* 1998; 28: 1-11.
143. **Brugnara C, Zurakowski D, DiCanzio J, Boyd T, Platt O.** Reticulocyte hemoglobin content to diagnose iron deficiency in children. *Jama* 1999; 281: 2225-2230.
144. **Brugnara C.** Reticulocyte cellular indices: a new approach in the diagnosis of anemias and monitoring of erythropoietic function. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2000; 37: 93-130.
145. **Ageeli AA, Algahtani FH, Alsaed AH.** Reticulocyte Hemoglobin Content and Iron Deficiency: A Retrospective Study in Adults. *Genet Test Mol Biomarkers* 2013.
146. **Fishbane S, Galgano C, Langley RC, Jr., Canfield W, Maesaka JK.** Reticulocyte hemoglobin content in the evaluation of iron status of hemodialysis patients. *Kidney Int* 1997; 52: 217-222.
147. **Fishbane S, Shapiro W, Dutka P, Valenzuela OF, Fau-**

- bert J. A randomized trial of iron deficiency testing strategies in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2001; 60: 2406-2411.
148. Tsuchiya K, Saito M, Okano-Sugiyama H, Nihei H, Ando M, Teramura M, et al. Monitoring the content of reticulocyte hemoglobin (CHR) as the progression of anemia in nondialysis chronic renal failure (CRF) patients. *Ren Fail* 2005; 27: 59-65.
  149. Garzia M, Di Mario A, Ferraro E, Tazza L, Rossi E, Luciani G, et al. Reticulocyte Hemoglobin Equivalent: An Indicator of Reduced Iron Availability in Chronic Kidney Diseases during Erythropoietin Therapy. *Lab Hematol* 2007; 13: 6-11.
  150. Eguchi A, Mochizuki T, Tsukada M, Kataoka K, Hamaguchi Y, Oguni S, et al. Serum hepcidin levels and reticulocyte hemoglobin concentrations as indicators of the iron status of peritoneal dialysis patients. *Int J Nephrol* 2012; 2012: 239476.
  151. Urrechaga E, Borque L, Escanero JF. Erythrocyte and reticulocyte indices in the assessment of erythropoiesis activity and iron availability. *Int J Lab Hematol* 2012.
  152. Parisotto R, Wu M, Ashenden MJ, Emslie KR, Gore CJ, Howe C, et al. Detection of recombinant human erythropoietin abuse in athletes utilizing markers of altered erythropoiesis. *Haematologica* 2001; 86: 128-137.
  153. Fallon KE. Utility of hematological and iron-related screening in elite athletes. *Clin J Sport Med* 2004; 14: 145-152.
  154. Buttarello M, Temporin V, Ceravolo R, Farina G, Balian P. The new reticulocyte parameter (RET-Y) of the Sysmex XE 2100: its use in the diagnosis and monitoring of posttreatment sideropenic anemia. *Am J Clin Pathol* 2004; 121: 489-495.
  155. Giles I. Hematology automation aids in athletic testing. *MLO Med Lab Obs* 2005; 37: 22, 24.
  156. Fujimoto K. Principles of measurement in hematology analyzers manufactured by Sysmex Corporation. *Sysmex J Int* 1999; 9: 31-44.
  157. Coulter DB, Reece WO, Small LL, Snodgrass RR. Continuous recording of erythrocyte counts and hemoglobin concentrations in the dog. *Lab Anim Sci* 1972; 22: 210-215.
  158. Margolis KL, Manson JE, Greenland P, Rodabough RJ, Bray PF, Safford M, et al. Leukocyte count as a predictor of cardiovascular events and mortality in postmenopausal women: the Women's Health Initiative Observational Study. *Arch Intern Med* 2005; 165: 500-508.
  159. Jia EZ, Yang ZJ, Yuan B, Zang XL, Wang RH, Zhu TB, et al. Relationship between leukocyte count and angiographical characteristics of coronary atherosclerosis. *Acta Pharmacol Sin* 2005; 26: 1057-1062.
  160. Futterman LG, Lemberg L. The leukocyte count, a measure and predictor of coronary events. *Am J Crit Care* 2007; 16: 401-404.
  161. Ndrepepa G, Braun S, Iijima R, Keta D, Byrne RA, Schulz S, et al. Total leukocyte count, but not C-reactive protein, predicts 1-year mortality in patients with acute coronary syndromes treated with percutaneous coronary intervention. *Clin Sci (Lond)* 2009; 116: 651-658.
  162. o Hartaigh B, Bosch JA, Thomas GN, Lord JM, Pilz S, Loerbroks A, et al. Which leukocyte subsets predict cardiovascular mortality? From the LUDwigshafen Risk and Cardiovascular Health (LURIC) Study. *Atherosclerosis* 2012; 224: 161-169.
  163. Angeli F, Angeli E, Ambrosio G, Mazzotta G, Reboldi G, Verdecchia P. Neutrophil count for the identification of postmenopausal hypertensive women at increased cardiovascular risk. *Obstet Gynecol* 2010; 115: 695-703.
  164. Pierre RV. Peripheral blood film review. The demise of the eyecount leukocyte differential. *Clin Lab Med* 2002; 22: 279-297.
  165. Castro OL, Haddy TB, Rana SR. Age- and sex-related blood cell values in healthy black Americans. *Public Health Rep* 1987; 102: 232-237.
  166. Wolach B, Ashkenazi M, Grossmann R, Gavrieli R, Friedman Z, Bashan N, et al. Diurnal fluctuation of leukocyte G6PD activity. A possible explanation for the normal neutrophil bactericidal activity and the low incidence of pyogenic infections in patients with severe G6PD deficiency in Israel. *Pediatr Res* 2004; 55: 807-813.
  167. Lewis SM. Reference ranges and normal value. In: Lewis SM, Bain BJ, Bates I, eds. *Dacie and Lewis practical haematology* (ed 5th edition). Philadelphia, PA, USA: Churchill Livingstone; 2006: 11-24.
  168. Balloch AJ, Cauchi MN. Reference ranges for haematology parameters in pregnancy derived from patient populations. *Clin Lab Haematol* 1993; 15: 7-14.
  169. Taft EG, Grossman J, Abraham GN, Leddy JP, Lichtman MA. Pseudoleukocytosis due to cryoprotein crystals. *Am J Clin Pathol* 1973; 60: 669-671.
  170. Shah PC, Rao K, Noble V, Kumaraiah V, Patel AR. Transient pseudoleukocytosis caused by cryocrystal-globulinemia. *Arch Pathol Lab Med* 1978; 102: 172-173.
  171. Luzar MJ, Camisa C, Neff JC. Essential mixed cryoglobulinemia (type II) with pseudoleukocytosis. *Arthritis Rheum* 1984; 27: 353-355.
  172. Zandecki M, Dupriez B, Fenaux P, Jude B, Watel A, Dracon M, et al. Cytological and ultrastructural assessment of free crystals or precipitates associated with pseudoleukocytosis and pseudothrombocytosis in cryoglobulinemia. *Nouv Rev Fr Hematol* 1989; 31: 397-402.
  173. Gulati G, Piao Y, Song A. Interference by cryoproteins in the blood with automated CBCs. *Lab Med* 1995; 26: 138-142.
  174. von Schenck H. Cryoglobulin detected through spurious increases in automated leukocyte counts. *Clin*

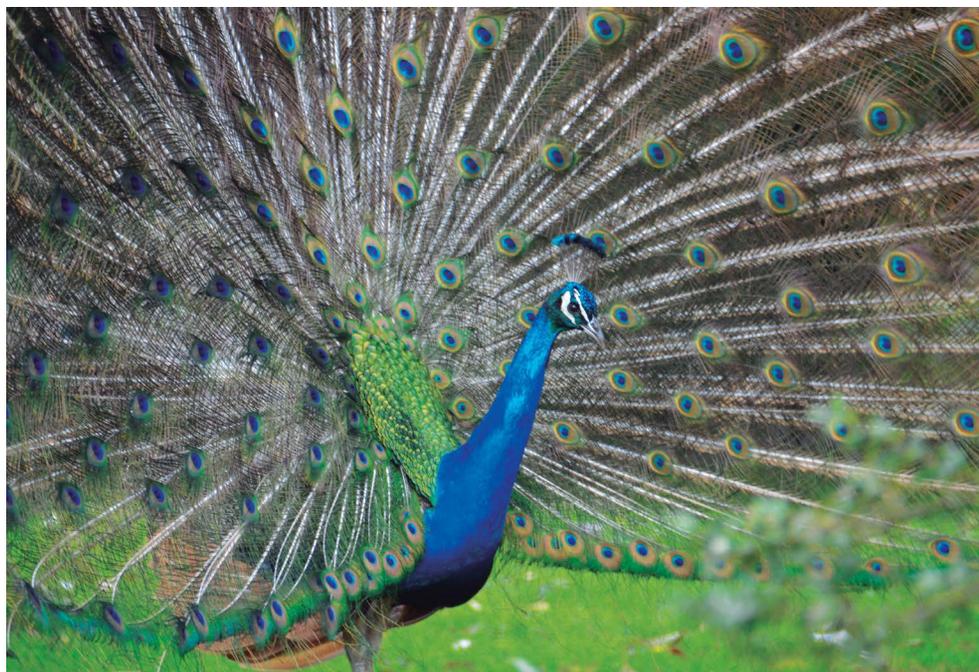
- Chem 1985; 31: 1086-1087.
175. **Di Giovanni S, De Matteis MA, Ciocca D, Cirella MP, Nanni Costa MP.** Pseudothrombocytosis and pseudoleukocytosis in a case of essential mixed cryoglobulinemia (type II). *Clin Exp Rheumatol* 1986; 4: 143-145.
  176. **Fohlen-Walter A, Jacob C, Lecompte T, Lesesve JF.** Laboratory identification of cryoglobulinemia from automated blood cell counts, fresh blood samples, and blood films. *Am J Clin Pathol* 2002; 117: 606-614.
  177. **Smith SB, Arkin C.** Cryofibrinogenemia: incidence, clinical correlations, and a review of the literature. *Am J Clin Pathol* 1972; 58: 524-530.
  178. **Savage RA.** Pseudoleukocytosis due to EDTA-induced platelet clumping. *Am J Clin Pathol* 1984; 81: 317-322.
  179. **Savage RA.** Analytic inaccuracy resulting from hematology specimen characteristics. Three cases of clinically misleading artifacts affecting white blood cell and platelet counts. *Am J Clin Pathol* 1989; 92: 295-299.
  180. **Berkman N, Michaeli Y, Or R, Eldor A.** EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: a clinical study of 18 patients and a review of the literature. *Am J Hematol* 1991; 36: 195-201.
  181. **Racchi O, Rapezzi D.** Megathrombocytes and spurious thrombocytopenia. *Eur J Haematol* 2001; 66: 140-141.
  182. **Robbins SH, Conly MA, Oettinger J.** Cold-induced granulocyte agglutination. A cause of pseudoleukopenia. *Arch Pathol Lab Med* 1991; 115: 155-157.
  183. **Pewarchuk W, VanderBoom J, Blajchman MA.** Pseudopolycythemia, pseudothrombocytopenia, and pseudoleukopenia due to overfilling of blood collection vacuum tubes. *Arch Pathol Lab Med* 1992; 116: 90-92.
  184. **Sanders C.** Fragility of leucocytes in chronic lymphatic leukaemia. *J Clin Pathol* 1966; 19: 526.
  185. **Luke RG, Koepke JA, Siegel RR.** The effects of immunosuppressive drugs and uremia on automated leukocyte counts. *Am J Clin Pathol* 1971; 56: 503-507.
  186. **Epstein HD, Kruskall MS.** Spurious leukopenia due to *in vitro* granulocyte aggregation. *Am J Clin Pathol* 1988; 89: 652-655.
  187. **Rohr LR, Rivers FM.** Spurious automated leukopenia due to *in vitro* granulocyte aggregation. *Am J Clin Pathol* 1990; 93: 572-574.
  188. **Hillyer CD, Knopf AN, Berkman EM.** EDTA-dependent leukoagglutination. *Am J Clin Pathol* 1990; 94: 458-461.
  189. **O'Connor BM, Shastri KA, Logue GL.** Spurious neutropenia: ethylenediaminetetraacetate-dependent *in vitro* neutrophil agglutination. *N Y State J Med* 1991; 91: 455-456.
  190. **Galifi M, Schinella M, Nicoli M, Lippi G.** Instrumental reports and effect of anticoagulants in a case of neutrophil agglutination *in vitro*. *Haematologica* 1993; 78: 364-370.
  191. **Deol I, Hernandez AM, Pierre RV.** Ethylenediamine tetraacetic acid-associated leukoagglutination. *Am J Clin Pathol* 1995; 103: 338-340.
  192. **Glasser L.** Pseudo-neutropenia secondary to leukoagglutination. *Am J Hematol* 2005; 80: 147.
  193. **Moraglio D, Banfi G, Arnelli A.** Association of pseudothrombocytopenia and pseudoleukopenia: evidence for different pathogenic mechanisms. *Scand J Clin Lab Invest* 1994; 54: 257-265.
  194. **Zelster D, Fusman R, Chapman J, Rotstein R, Shapira I, Elkayam O, et al.** Increased leukocyte aggregation induced by gamma-globulin: a clue to the presence of pseudoleukopenia. *Am J Med Sci* 2000; 320: 177-182.
  195. **Waddell CC, Shapiro DM, Min KW.** Spuriously low automated blood counts in mucin-producing adenocarcinoma. *Am J Clin Pathol* 1977; 67: 115-116.
  196. **Iddles C, Taylor J, Cole R, Hill FGH.** Evaluation of the immature granulocyte count in the diagnosis of sepsis using the Sysmex XE-2100 analyser. *Sysmex J Int* 2007; 17 (Suppl 1): 20-29.
  197. **Briggs C, Kunka S, Fujimoto H, Hamaguchi Y, Davis BH, Machin SJ.** Evaluation of immature granulocyte counts by the XE-IG master: upgraded software for the XE-2100 automated hematology analyzer. *Lab Hematol* 2003; 9: 117-124.
  198. **Field D, Taube E, Heumann S.** Performance evaluation of the immature granulocyte parameter on the Sysmex XE-2100 automated hematology analyzer. *Lab Hematol* 2006; 12: 11-14.
  199. **Nigro KG, O'Riordan M, Molloy EJ, Walsh MC, Sandhaus LM.** Performance of an automated immature granulocyte count as a predictor of neonatal sepsis. *Am J Clin Pathol* 2005; 123: 618-624.
  200. **Farias MG, Garcia MP, Cagliari CR.** Evaluation of the immature myeloid information (IMI) by Sysmex XE 2100(R) hematology analyzer in the identification of blasts of myeloid lineage. *Clin Chem Lab Med* 2012; 50: 1861-1864.
  201. **Pekelharing JM, Hauss O, de Jonge R, Lokhoff J, Sodikromo J, Spaans M, et al.** Haematology reference intervals for established and novel parameters in healthy adults. *Diagnostic perspectives* 2010; 1: 1-11.
  202. **Ansari-Lari MA, Kickler TS, Borowitz MJ.** Immature granulocyte measurement using the Sysmex XE-2100. Relationship to infection and sepsis. *Am J Clin Pathol* 2003; 120: 795-799.
  203. **Cimenti C, Erwa W, Herkner KR, Kasper DC, Muller W, Resch B.** The predictive value of immature granulocyte count and immature myeloid information in the diagnosis of neonatal sepsis. *Clin Chem Lab Med* 2012; 50: 1429-1432.
  204. **Nierhaus A, Klatte S, Linssen J, Eismann NM, Wichmann D, Hedke J, et al.** Revisiting the white blood cell

- count: immature granulocytes count as a diagnostic marker to discriminate between SIRS and sepsis - a prospective, observational study. *BMC Immunol* 2013; 14: 8.
205. **George TI.** Malignant or benign leukocytosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012; 2012: 475-484.
  206. **Fernandes B, Hamaguchi Y.** Automated enumeration of immature granulocytes. *Am J Clin Pathol* 2007; 128: 454-463.
  207. **Schaffer M, Rowan RM.** The clinical relevance of nucleated red blood cell counts. *Sysmex J Int* 2010; 10: 59-63.
  208. **Gulati G, Behling E, Kocher W, Schwarting R.** An evaluation of the performance of Sysmex XE-2100 in enumerating nucleated red cells in peripheral blood. *Arch Pathol Lab Med* 2007; 131: 1077-1083.
  209. **Danise P, Maconi M, Barrella F, Di Palma A, Avino D, Rovetti A, et al.** Evaluation of nucleated red blood cells in the peripheral blood of hematological diseases. *Clin Chem Lab Med* 2012; 50: 357-360.
  210. **Gasparovic VE, Ahmetasevic SG, Colic A.** Nucleated red blood cells count as first prognostic marker for adverse neonatal outcome in severe preeclamptic pregnancies. *Coll Antropol* 2012; 36: 853-857.
  211. **Desai S, Jones SL, Turner KL, Hall J, Moore LJ.** Nucleated red blood cells are associated with a higher mortality rate in patients with surgical sepsis. *Surg Infect (Larchmt)* 2012; 13: 360-365.
  212. **Kuert S, Holland-Letz T, Friese J, Stachon A.** Association of nucleated red blood cells in blood and arterial oxygen partial tension. *Clin Chem Lab Med* 2011; 49: 257-263.
  213. **Shah R, Reddy S, Horst HM, Stassinopoulos J, Jordan J, Rubinfeld I.** Getting back to zero with nucleated red blood cells: following trends is not necessarily a bad thing. *Am J Surg* 2012; 203: 343-345; discussion 345-346.
  214. **de Keijzer MH, van der Meer W.** Automated counting of nucleated red blood cells in blood samples of newborns. *Clin Lab Haematol* 2002; 24: 343-345.
  215. **Linssen J, Jennissen V.** Identification of the high fluorescence lymphocyte (HFL) count on the XE-5000 with efficient multichannel messaging (eMM) as antibody synthesizing cells, c. q. plasma cells. *Sysmex J Int* 2009; 19: 19-25.
  216. **Linssen J, Jennissen V, Hildmann J, Reisinger E, Schindler J, Malchau G, et al.** Identification and quantification of high fluorescence-stained lymphocytes as antibody synthesizing/secretory cells using the automated routine hematology analyzer XE-2100. *Cytometry B Clin Cytom* 2007; 72: 157-166.
  217. **Rowan RM, Linssen J.** A picture is worth a thousand words. *Sysmex J Int* 2005; 15: 27-38.
  218. **Herklotz R, Huber R.** Precision and accuracy of the leukocyte differential on the Sysmex XE 2100. *Sysmex J Int* 2001; 11: 8-21.
  219. **Campuzano-Zuluaga G, Alvarez-Sanchez G, Escobar-Gallo GE, Valencia-Zuluaga LM, Rios-Orrego AM, Pabon-Vidal A, et al.** Design of malaria diagnostic criteria for the Sysmex XE-2100 hematology analyzer. *Am J Trop Med Hyg* 2010; 82: 402-411.
  220. **Campuzano-Zuluaga G, Hanscheid T, Grobusch MP.** Automated haematology analysis to diagnose malaria. *Malar J* 2010; 9: 346.
  221. **Mohapatra S, Samantaray JC, Arulselvi S, Panda J, Munot K, Saxena R.** Automated detection of malaria with haematology analyzer Sysmex XE-2100. *Indian J Med Sci* 2011; 65: 26-31.
  222. **Huh J, Jung J, Yoon H, Chung W.** Pseudoeosinophilia associated with malaria infection determined in the Sysmex XE-2100 hematology analyzer. *Ann Hematol* 2005; 84: 400-402.
  223. **Huh HJ, Oh GY, Huh JW, Chae SL.** Malaria detection with the Sysmex XE-2100 hematology analyzer using pseudo eosinophilia and abnormal WBC scattergram. *Ann Hematol* 2008; 87: 755-759.
  224. **Inoue H.** Overview of automated hematology analyzer XE-2100. *Sysmex J Int* 1999; 9: 58-64.
  225. **Lombarts AJ, de Kieviet W.** Recognition and prevention of pseudothrombocytopenia and concomitant pseudoleukocytosis. *Am J Clin Pathol* 1988; 89: 634-639.
  226. **Cohen AM, Cycowitz Z, Mittelman M, Lewinski UH, Gardyn J.** The incidence of pseudothrombocytopenia in automatic blood analyzers. *Haematologia (Budap)* 2000; 30: 117-121.
  227. **Matarazzo M, Conturso V, Di Martino M, Chiurazzi F, Guida G, Morante R.** EDTA-dependent pseudothrombocytopenia in a case of liver cirrhosis. *Panminerva Med* 2000; 42: 155-157.
  228. **Mori M, Kudo H, Yoshitake S, Ito K, Shinguu C, Noguchi T.** Transient EDTA-dependent pseudothrombocytopenia in a patient with sepsis. *Intensive Care Med* 2000; 26: 218-220.
  229. **Hsieh AT, Chao TY, Chen YC.** Pseudothrombocytopenia associated with infectious mononucleosis. *Arch Pathol Lab Med* 2003; 127: e17-18.
  230. **Tu CH, Yang S.** Olanzapine-induced EDTA-dependent pseudothrombocytopenia. *Psychosomatics* 2002; 43: 421-423.
  231. **Yoshikawa H.** EDTA-dependent pseudothrombocytopenia induced by valproic acid. *Neurology* 2003; 61: 579-580.
  232. **Christensen RD, Sola MC, Rimsza LM, McMahan MJ, Calhoun DA.** Pseudothrombocytopenia in a preterm neonate. *Pediatrics* 2004; 114: 273-275.
  233. **Ahmed P, Minnich V, Michael JM.** Platelet satellitosis with spurious thrombocytopenia and neutropenia. *Am J Clin Pathol* 1978; 69: 473-474.
  234. **Bodensteiner D, Talley R, Rosenfeld C.** Platelet satellitosis: a possible mechanism. *South Med J* 1987; 80: 459-461.

235. **Cunningham VL, Brandt JT.** Spurious thrombocytopenia due to EDTA-independent cold-reactive agglutinins. *Am J Clin Pathol* 1992; 97: 359-362.
236. **Shimasaki AK, Fujita K, Fujio S, Sakurabayashi I.** Pseudoleukocytosis without pseudothrombocytopenia induced by the interaction of EDTA and Ig-G(2)-kappa M-protein. *Clin Chim Acta* 2000; 299: 119-128.
237. **Kjeldsberg CR.** Letter: Platelet satellitism. *N Engl J Med* 1974; 290: 165.
238. **Greipp PR, Gralnick HR.** Platelet to leukocyte adherence phenomena associated with thrombocytopenia. *Blood* 1976; 47: 513-521.
239. **Lazo-Langner A, Piedras J, Romero-Lagarza P, Lome-Maldonado C, Sánchez-Guerrero J, López-Karpovitch X.** Platelet satellitism, spurious neutropenia, and cutaneous vasculitis: casual or causal association? *Am J Hematol* 2002; 70: 246-249.
240. **Sultan S, Muhammad Irfan S.** Platelet satellitism: a spurious cause of thrombocytopenia in chronic liver disease. *Eur J Haematol* 2012.
241. **Solanki DL, Blackburn BC.** Spurious thrombocytopenia during pregnancy. *Obstet Gynecol* 1985; 65: 14S-17S.
242. **Hatzipantelis ES, Tsantali H, Athanassiou-Metaxa M, Avramidou K, Zambul D, Gombakis N.** Hereditary giant platelet disorder presented as pseudothrombocytopenia. *Eur J Haematol* 2001; 67: 330-331.
243. **Onder O, Weinstein A, Hoyer LW.** Pseudothrombocytopenia caused by platelet agglutinins that are reactive in blood anticoagulated with chelating agents. *Blood* 1980; 56: 177-182.
244. **Poskitt TR, Poskitt PK.** Spurious thrombocytopenia produced by the interaction of rheumatoid factor with antiplatelet antibody. *Am J Hematol* 1985; 18: 207-211.
245. **Perez-Vila ME, Pedro C, Mellibovsky L, Woessner S, Serrano S, Florensa L.** Spurious thrombocytosis associated with cryoglobulinaemia: a case report. *Haematologica* 2002; 87: ELT39.
246. **Ballard HS, Sidhu G.** Cytoplasmic fragments causing spurious platelet counts in hairy cell leukemia: ultrastructural characterization. *Arch Intern Med* 1981; 141: 942-944.
247. **Stass SA, Holloway ML, Peterson V, Creegan WJ, Gallivan M, Schumacher HR.** Cytoplasmic fragments causing spurious platelet counts in the leukemic phase of poorly differentiated lymphocytic lymphoma. *Am J Clin Pathol* 1979; 71: 128-128.
248. **Armitage JO, Goeken JA, Feagler JR.** Spurious elevation of the platelet count in acute leukemia. *Jama* 1978; 239: 433-434.
249. **Hanker JS, Giammara BL.** Neutrophil pseudo-platelets: their discrimination by myeloperoxidase demonstration. *Science* 1983; 220: 415-417.
250. **Payne BA, Pierre RV.** Pseudothrombocytopenia: a laboratory artifact with potentially serious consequences. *Mayo Clin Proc* 1984; 59: 123-125.
251. **Li S, Salhany KE.** Spurious elevation of automated platelet counts in secondary acute monocytic leukemia associated with tumor lysis syndrome. *Arch Pathol Lab Med* 1999; 123: 1111-1114.
252. **Bonifazi F, Stanzani M, Bandini G.** A case of pseudothrombocytosis. *Haematologica* 1999; 84: 275.
253. **Morton BD, Orringer EP, LaHart LA, Stass SA.** Pappenheimer bodies. An additional cause for a spurious platelet count. *Am J Clin Pathol* 1980; 74: 310-311.
254. **Gloster ES, Strauss RA, Jimenez JF, Neuberger RW, Berry DH, Turner EJ.** Spurious elevated platelet counts associated with bacteremia. *Am J Hematol* 1985; 18: 329-332.
255. **Bain BJ, Arnold JA, Jowzi Z.** Spurious automated platelet count. *Am J Clin Pathol* 2004; 122: 316; author reply 316.
256. **Threatte GA.** Usefulness of the mean platelet volume. *Clin Lab Med* 1993; 13: 937-950.
257. **Jackson SR, Carter JM.** Platelet volume: laboratory measurement and clinical application. *Blood Rev* 1993; 7: 104-113.
258. **International Committee for Standardization in Haematology.** Recommendations for the analysis of red cell, white cell and platelet size distribution curves: I. General principles. *J Clin Pathol* 1982; 35: 1320-1322.
259. **Osselaer JC, Jamart J, Scheiff JM.** Platelet distribution width for differential diagnosis of thrombocytosis. *Clin Chem* 1997; 43: 1072-1076.
260. **Trowbridge EA, Martin JF.** The platelet volume distribution: a signature of the prethrombotic state in coronary heart disease? *Thromb Haemost* 1987; 58: 714-717.
261. **Bath PM, Butterworth RJ.** Platelet size: measurement, physiology and vascular disease. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1996; 7: 157-161.
262. **Wiwanitkit V.** Plateletcrit, mean platelet volume, platelet distribution width: its expected values and correlation with parallel red blood cell parameters. *Clin Appl Thromb Hemost* 2004; 10: 175-178.
263. **Kaito K, Otsubo H, Usui N, Yoshida M, Tanno J, Kurihara E, et al.** Platelet size deviation width, platelet large cell ratio, and mean platelet volume have sufficient sensitivity and specificity in the diagnosis of immune thrombocytopenia. *Br J Haematol* 2005; 128: 698-702.
264. **Bessman JD, Gardner FH.** Platelet size in thrombocytopenia due to sepsis. *Surg Gynecol Obstet* 1983; 156: 177-180.
265. **Bessman JD, Gilmer PR, Gardner FH.** Use of mean platelet volume improves detection of platelet disorders. *Blood Cells* 1985; 11: 127-135.
266. **Macchi I, Chamlian V, Sadoun A, Le Dirach A, Guilhot J, Guilhot F, et al.** Comparison of reticulated platelet

- count and mean platelet volume determination in the evaluation of bone marrow recovery after aplastic chemotherapy. *Eur J Haematol* 2002; 69: 152-157.
267. **Bessman JD.** The relation of megakaryocyte ploidy to platelet volume. *Am J Hematol* 1984; 16: 161-170.
  268. **Berg SL, Steuber CP, Poplack DG, 1155-1162.** Clinical manifestations of acute lymphoblastic leukemia. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, et al., eds. *Hematology Basic principles and practice* (ed 4th edition). Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier, Inc; 2005: 1155-1162.
  269. **Miller KB, Daoust PR.** Clinical manifestations of acute myeloid leukemia. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, et al., eds. *Hematology Basic principles and practice* (ed 4th edition). Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier, Inc; 2005: 1071-1097.
  270. **De Angelo DJ, R.M. S.** Myelodysplastic syndromes: Biology and treatment. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, et al., eds. *Hematology Basic principles and practice* (ed 4th edition). Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier, Inc; 2005: 1195-1208.
  271. **Patel DV, Rai KR.** Chronic lymphocytic leukemia. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, et al., eds. *Hematology Basic principles and practice* (ed 4th edition). Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier, Inc; 2005: 1437-1454.
  272. **Zakarija A, Peterson LC, Tallman MS.** Hairy cell leukemia. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, et al., eds. *Hematology Basic principles and practice* (ed 4th edition). Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier, Inc; 2005: 1455-1465.
  273. **Karparkin S, Freedman ML.** Hypersplenic thrombocytopenia differentiated from increased peripheral destruction by platelet volume. *Ann Intern Med* 1978; 89: 200-203.
  274. **Levin J, Bessman JD.** The inverse relation between platelet volume and platelet number. Abnormalities in hematologic disease and evidence that platelet size does not correlate with platelet age. *J Lab Clin Med* 1983; 101: 295-307.
  275. **Threatte GA, Adrados C, Ebbe S, Brecher G.** Mean platelet volume: the need for a reference method. *Am J Clin Pathol* 1984; 81: 769-772.
  276. **Bull BS, Zucker MB.** Changes in platelet volume produced by temperature, metabolic inhibitors, and aggregating agents. *Proc Soc Exp Biol Med* 1965; 120: 296-301.
  277. **Bessman JD, Williams LJ, Gilmer PR, Jr.** Platelet size in health and hematologic disease. *Am J Clin Pathol* 1982; 78: 150-153.
  278. **Nelson RB, 3rd, Kehl D.** Electronically determined platelet indices in thrombocytopenic patients. *Cancer* 1981; 48: 954-956.
  279. **Beyan C, Kaptan K, Ifran A.** Platelet count, mean platelet volume, platelet distribution width, and plateletcrit do not correlate with optical platelet aggregation responses in healthy volunteers. *J Thromb Thrombolysis* 2006; 22: 161-164.
  280. **Ntaios G, Gurer O, Fauzi M, Aubert C, Michel P.** Hypertension is an independent predictor of mean platelet volume in patients with acute ischemic stroke. *Intern Med J* 2010.
  281. **Babu E, Basu D.** Platelet large cell ratio in the differential diagnosis of abnormal platelet counts. *Indian J Pathol Microbiol* 2004; 47: 202-205.
  282. **Kabutomori O, Kanakura Y, Iwatani Y.** Characteristic changes in platelet-large cell ratio, lactate dehydrogenase and C-reactive protein in thrombocytosis-related diseases. *Acta Haematol* 2007; 118: 84-87.
  283. **Abe Y, Wada H, Tomatsu H, Sakaguchi A, Nishioka J, Yabu Y, et al.** A simple technique to determine thrombopoiesis level using immature platelet fraction (IPF). *Thromb Res* 2006; 118: 463-469.
  284. **Abe Y, Wada H, Sakakura M, Nishioka J, Tomatsu H, Hamaguchi Y, et al.** Usefulness of fully automated measurement of reticulated platelets using whole blood. *Clin Appl Thromb Hemost* 2005; 11: 263-270.
  285. **Ault KA, Rinder HM, Mitchell J, Carmody MB, Vary CP, Hillman RS.** The significance of platelets with increased RNA content (reticulated platelets). A measure of the rate of thrombopoiesis. *Am J Clin Pathol* 1992; 98: 637-646.
  286. **Richards EM, Baglin TP.** Quantitation of reticulated platelets: methodology and clinical application. *Br J Haematol* 1995; 91: 445-451.
  287. **Campuzano-Maya G.** Trombocitopenia: más importante que encontrarla es saber porqué se presenta. *Medicina & Laboratorio* 2007; 13: 111-125.
  288. **Strauss G, Vollert C, von Stackelberg A, Weimann A, Gaedicke G, Schulze H.** Immature platelet count: a simple parameter for distinguishing thrombocytopenia in pediatric acute lymphocytic leukemia from immune thrombocytopenia. *Pediatr Blood Cancer* 2011; 57: 641-647.
  289. **Briggs C, Kunka S, Hart D, Oguni S, Machin SJ.** Assessment of an immature platelet fraction (IPF) in peripheral thrombocytopenia. *Br J Haematol* 2004; 126: 93-99.
  290. **Wang C, Smith BR, Ault KA, Rinder HM.** Reticulated platelets predict platelet count recovery following chemotherapy. *Transfusion* 2002; 42: 368-374.
  291. **Takami A, Shibayama M, Orito M, Omote M, Okumura H, Yamashita T, et al.** Immature platelet fraction for prediction of platelet engraftment after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2007; 39: 501-507.
  292. **Stohlawetz P, Stiegler G, Knobl P, Hocker P, Panzer S.** The rise of reticulated platelets after intensive chemotherapy for AML reduces the need for platelet transfusions. *Ann Hematol* 1999; 78: 271-273.
  293. **Nakamura T, Uchiyama S, Yamazaki M, Okubo K, Takakuwa Y, Iwata M.** Flow cytometric analysis of

- reticulated platelets in patients with ischemic stroke. *Thromb Res* 2002; 106: 171-177.
294. McCabe DJ, Harrison P, Sidhu PS, Brown MM, Machin SJ. Circulating reticulated platelets in the early and late phases after ischaemic stroke and transient ischaemic attack. *Br J Haematol* 2004; 126: 861-869.
295. Lakkis N, Dokainish H, Abuzahra M, Tsyboulev V, Jorgensen J, De Leon AP, et al. Reticulated platelets in acute coronary syndrome: a marker of platelet activity. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 2091-2093.
296. Di Mario A, Garzia M, Leone F, Arcangeli A, Pagano L, Zini G. Immature platelet fraction (IPF) in hospitalized patients with neutrophilia and suspected bacterial infection. *J Infect* 2009; 59: 201-206.
297. Kienast J, Schmitz G. Flow cytometric analysis of thiazole orange uptake by platelets: a diagnostic aid in the evaluation of thrombocytopenic disorders. *Blood* 1990; 75: 116-121.
298. O'Malley CJ, Rasko JE, Bassler RL, McGrath KM, Cebon J, Grigg AP, et al. Administration of pegylated recombinant human megakaryocyte growth and development factor to humans stimulates the production of functional platelets that show no evidence of *in vivo* activation. *Blood* 1996; 88: 3288-3298.
299. Noronha JF, Costa FF, Saad ST, Lorand-Metze IG, Grotto HZ. Evaluation of reticulated platelets in patients with sickle cell diseases. *Thromb Res* 2007.
300. Peterson P, Blomberg DJ, Rabinovitch A, Cornbleet PJ, Hematology and Clinical Microscopy Resource Committee of the College of American Pathologists. Physician review of the peripheral blood smear: when and why. An opinion. *Lab Hematol* 2001; 7: 157-179.
301. Barnes PW, McFadden SL, Machin SJ, Simson E. The international consensus group for hematology review: suggested criteria for action following automated CBC and WBC differential analysis. *Lab Hematol* 2005; 11: 83-90.
302. Gulati G, Song J, Florea AD, Gong J. Purpose and criteria for blood smear scan, blood smear examination, and blood smear review. *Ann Lab Med* 2013; 33: 1-7.
303. Campuzano-Maya G. Editorial: Los contadores de células: son excelentes pero no son perfectos. *Medicina & Laboratorio* 2005; 11: 309-310.



Pavo real, *Pavo cristatus*  
La Ceja, Antioquia  
Germán Campuzano Maya  
gcm@lch.co