

CURSO: ACTUALIZACIÓN EN HEMATOLOGÍA APLICADA

Interpretación del Hemograma y Estudio del Frotis



**CONSEJO DE BIOQUIMICOS
DE LA PROVINCIA DE JUJUY**

Septiembre - Noviembre 2026

PROGRAMA

Módulo 1 (24 y 26/09/2026): HEMATOPOYESIS – SERIE ERITROIDE – SERIE MIELOIDE

Hematopoyesis – Morfología – Valores de Referencia.

Condiciones PreAnalíticas - Frotis – Interpretación.

Serie Eritroide: Índices Hematimétricos y Morfología Eritrocitaria – Correlación con los mecanismos de Anemia (Correlación Fisiopatológica).

Serie Mieloide Parte I: Fisiología, Morfología, Frotis, Interpretación, Leucocitosis/Leucopenias Benignas, Morfología, Frotis, Interpretación.

Contador hematológico: fundamentos técnicos y sistemas analíticos en el recuento automatizado.

Interpretación de alarmas, errores pre-analíticos, interferencias.

Urgencias en Hematología.

EVALUACIÓN DEL FROTIS DE S. PERIFÉRICA

MORFOLOGÍA

❖ La evaluación morfológica del frotis sanguíneo teñido, es uno de los procedimientos hematológicos más importantes.



Sin embargo

❖ La diferenciación manual de leucocitos es una técnica sujeta a errores y variaciones, las cuales no pueden ser eliminadas totalmente.

Por ello, tener en cuenta:

Las pautas para el estudio de células sanguíneas

- Extracción de la muestra.
- Anticoagulante.
- Características del portaobjeto para la confección del frotis y del extensor.
- Calidad y coloración del frotis.
- Elección de la zona para la observación microscópica.
- Etapas para el examen microscópico.
- Fuentes de error y presencia de artificios.

MORFOLOGÍA

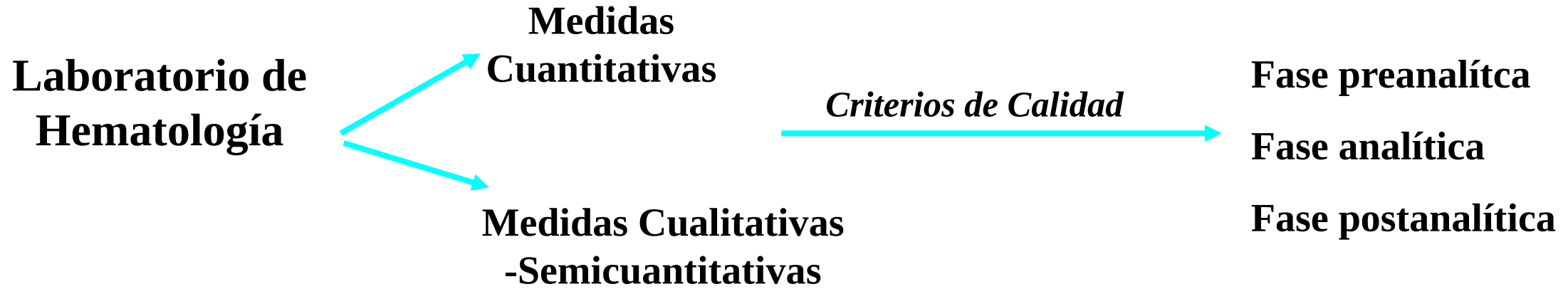
- ❖ El principal método de rutina para estudiar la morfología de los leucocitos es el extendido de sangre periférica teñido.
- ❖ La coloración tipo Romanowsky como la de May Grünwald-Giemsa, permite la clasificación de las células sanguíneas por sus variadas reacciones (apetencia tintorial) a los diferentes colorantes en la tinción.

Recordar : *CONFECCION DEL FROTIS SANGUINEO*

- Un buen frotis sanguíneo deberá ser grueso a partir de la gota y fino en el extremo opuesto.
- Deberá ocupar la porción central del portaobjeto y no debe tocar los bordes.
- El grosor del extendido estará dado por: 1) el ángulo entre el extensor y el portaobjeto (a > ángulo mayor grosor y más corto), 2) tamaño de la gota de sangre y 3) velocidad de la extensión

Recordar : *CONFECION DEL FROTIS SANGUINEO*

- ❖ La extensión debe ser de calidad óptima
- ❖ Se recomienda realizarla con sangre sin anticoagulante (punta de jeringa)
- ❖ Método de los dos portaobjetos es el de elección
- ❖ Observar ciertas precauciones: desechar primera gota, material desengrasado etc.



Fase preanalítica

- Solicitud de pruebas
- Preparación del paciente
- Colección del espécimen
- Identificación de muestras
- Transporte de muestras
- Conservación de muestras

Fase analítica

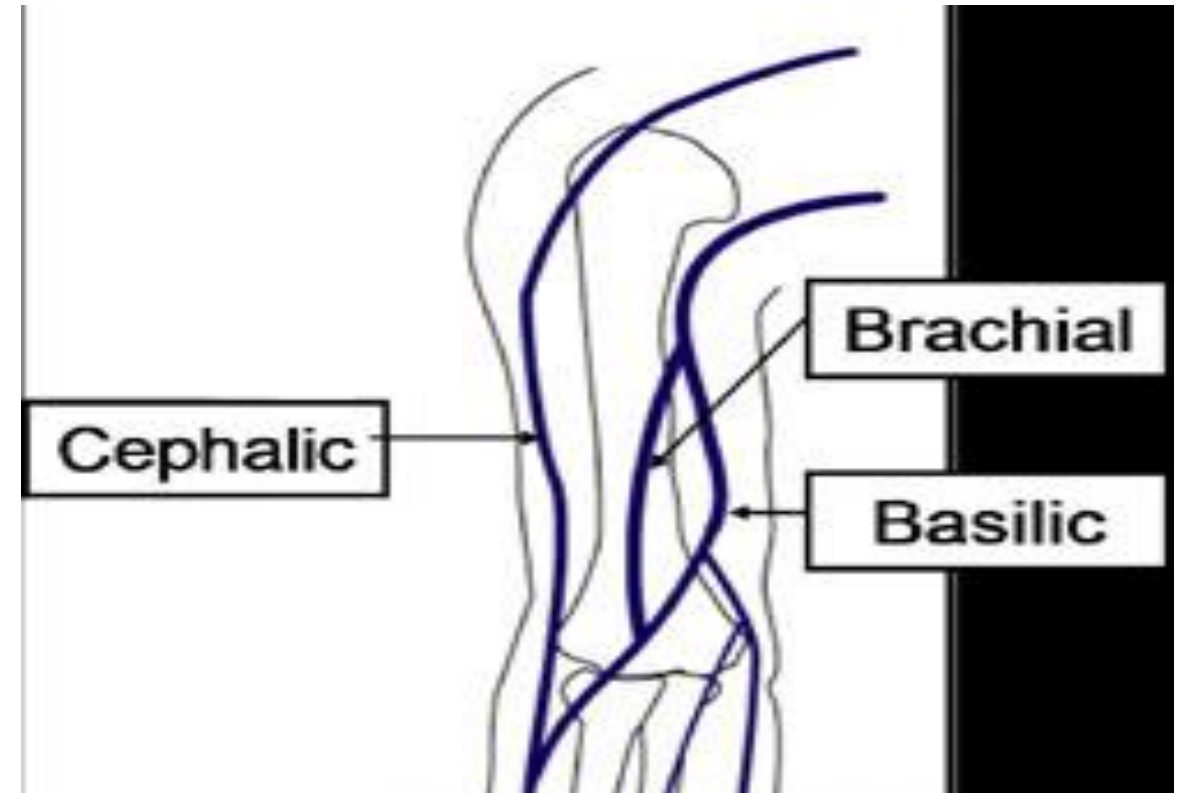
- Técnicas y métodos
- Equipos
- Calibración
- Utilización de estándares, calibradores, controles

Fase posanalítica

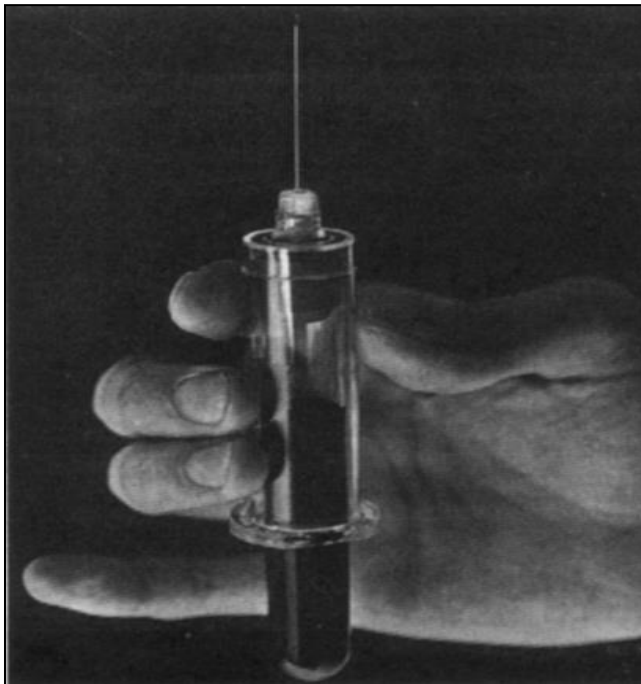
- Validación de resultados
- Trascripción de resultados
- Elaboración de (informe) de información
- Archivado de informes

Consideraciones para la Venopunción

- Restricciones dietarias
- Seguridad en el paciente
- Posición del paciente
- Selección del sitio de punción
- Aplicación de torniquete
- Limpieza de la zona de punción



Colección del espécimen



Causas de error en la extracción de sangre

- Tiempo excesivo de ligadura (hemoconcentración)



<https://www.icsch.org/publications>

Table 1 Changes in hemoglobin and hematocrit concentrations and reticulocytes count between the first and the last out of 10 consecutive blood specimens sequentially collected. The last specimen was drawn after a mean 2.30 ± 0.12 min tourniquet holding. Results are compared by paired Student's *t*-test

	<i>First specimen</i>	<i>Last specimen</i>	<i>p</i>
<i>Hematocrit</i>	0.438 ± 0.022	0.449 ± 0.022	< 0.001
<i>Hemoglobin (mg/dl)</i>	15.0 ± 0.8	15.2 ± 0.8	< 0.001
<i>Reticulocytes ($10^9/L$)</i>	77.3 ± 18.5	75.6 ± 17.3	0.170

Causas de error en la extracción de sangre



<https://www.icsch.org/publications>

- Tiempo excesivo de ligadura (hemoconcentración)
- Anticoagulante (proporción) inadecuada
- Extracción dificultosa, contaminación con factores hísticos
- Tubos de recolección sucios o húmedos
- Fraccionamiento brusco, hemólisis
- Homogenización inadecuada: hemólisis (excesiva), generación de microcoágulos
- Errores en la rotulación: nombre, código, fecha
- Punción digital, excesiva presión
- Tubos al vacío, llenado insuficiente

Anticoagulantes

Sales de EDTA:

1. EDTA-K₂ (1,5-2,2 mg/ml)
2. EDTA-K₃ (1,5-2,2 mg/ml)
3. EDTA-Na₂ (1,5-2,2 mg/ml)

Citrato de Sodio

1. 3,2% (0,109M)
2. 3,8% (0,129M)

Heparina

1. 15-20 U/ml (no se recomienda)

Características de los portaobjetos

Requisitos:

- Vidrio resistente a la corrosión, generalmente de 75 x 25mm, y 1mm de espesor.
- Debe ser liso, sin ningún tipo de distorsión, y totalmente transparente.
- Se recomienda realizar un prelavado: libre de polvo, grasa, hilos, algodón, secado total.
- Mantenerlos libres de humedad en un recipiente con una mezcla de 3 partes de alcohol y 1 parte de acetona hasta ser usados.

Limpieza:

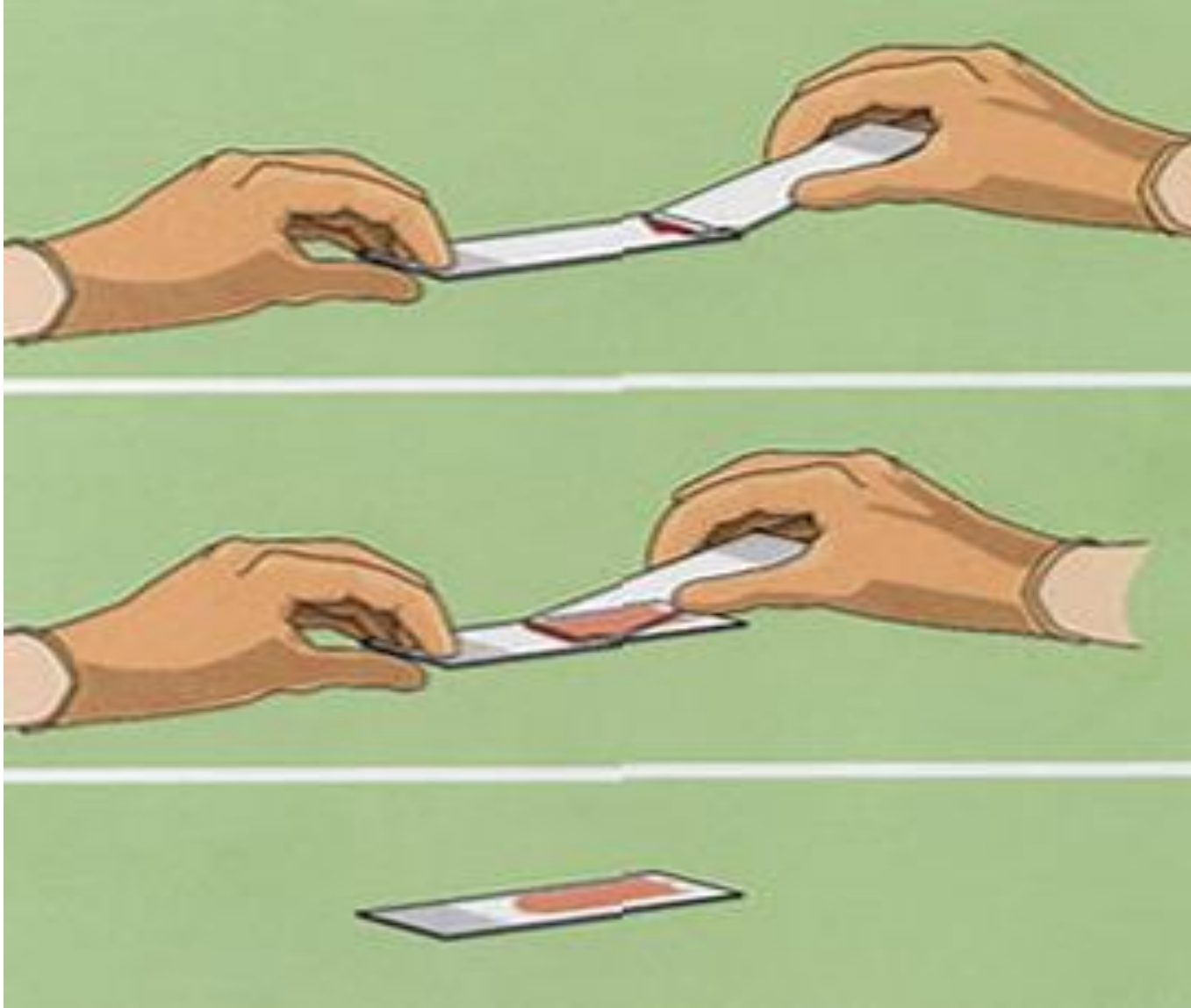
- Vidrios sucios: lavado en solución con detergente a 60°C durante 15'-20'
- Enjuagarlos con agua caliente previo al secado.

Extensor

Requisitos:

- Sensiblemente mas estrecho que los portaobjetos, para minimizar los efectos de la distrubución.
- Portaobjetos convencional con los bordes redondeados.
- El borde del extensor debe estar pulido, preferentemente.
- El extensor debe lavarse posteriormente a su uso, y secado perfectamente antes de su reutilización. La presencia de células sanguíneas de un espécimen anterior causa un arrastre significativo de células.

Frotis de Sangre Periférica (Método de Cuña)



1. Colocar una gota de punta de jeringa, aproximadamente de 2mm de diámetro, a 1-1,5 cm del extremo del portaobjeto
2. Apoyar el extensor sobre la gota en un ángulo de 30°-45°
3. Esperar el tiempo adecuado para que la muestra difunda lateralmente
4. Esparcir/arrastar hacia delante en una sola acción y velocidad constante
5. Secar el frotis completamente al aire previo a su tinción

Frotis de Sangre Periférica (Método de Cuña)

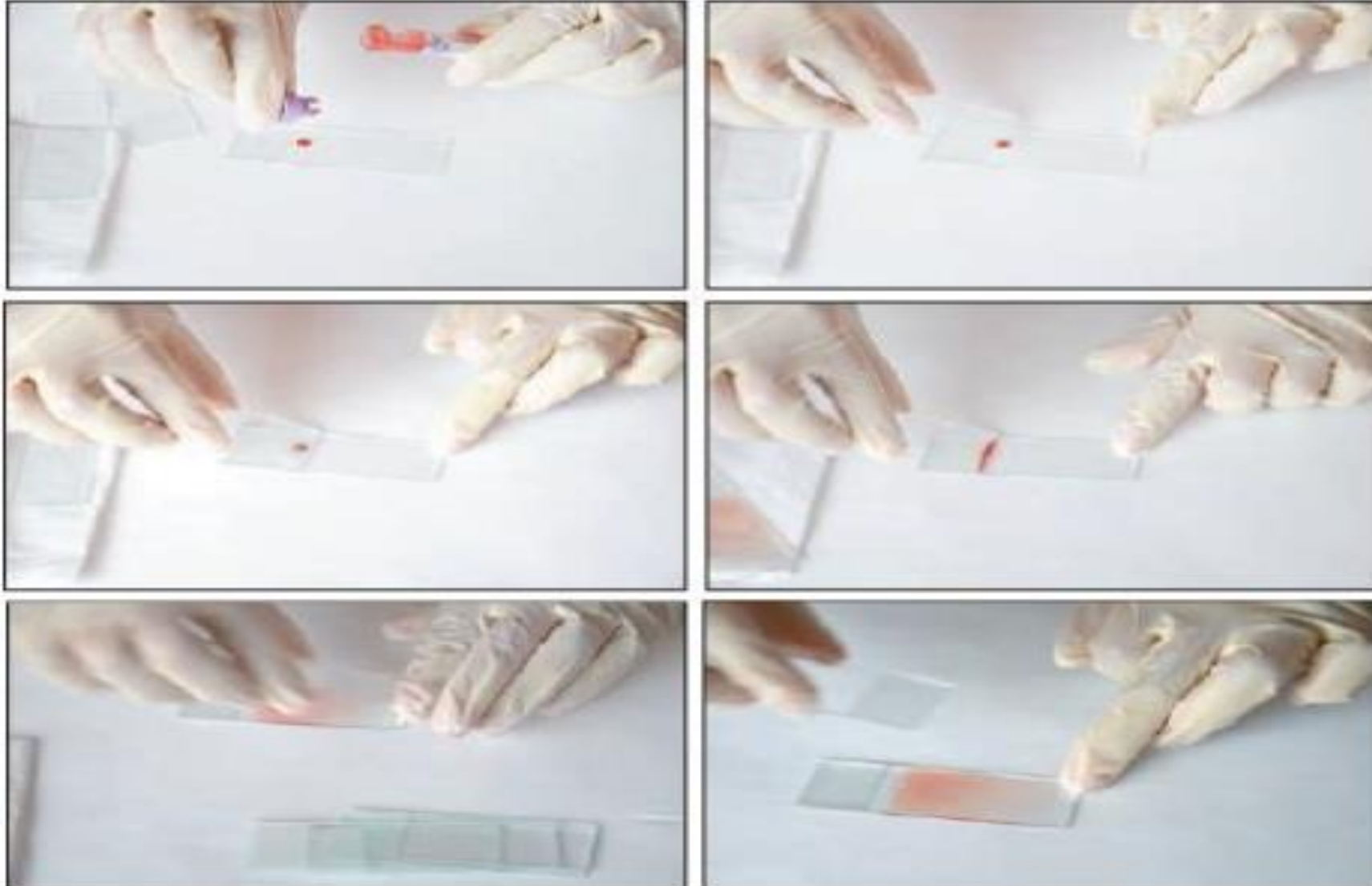


Imagen 59. Técnica para frotis de sangre periférica

Preparación del frotis:

- Frotis irregular, con imperfecciones y colas largas: borde del extensor sucio o astillado, portaobjeto con presencia de polvo.
- Agujeros en el frotis: extendido contaminado con partículas de grasa.
- Distribución irregular de leucocitos y plaquetas, especialmente en la cola: deficiente técnica de extensión (*agregados*).
- Frotis excesivamente corto o grueso: extensor colocado en ángulo incorrecto.
- Frotis prolongado hasta el final del portaobjeto: gota de sangre grande.
- Frotis delgado: gota de sangre pequeña.
- Frotis expandido hasta los bordes del portaobjeto: extensor muy ancho o en posición incorrecta.
- Cambios celulares degenerativos: demoras en la fijación (tiempo excesivo), fijador contaminado con agua.

Calidad en los frotis de Sangre Periférica

FORMAS ERRÓNEAS DEL FROTIS



EXTENSIÓN CORTA Y GRUESA



EXTENSIÓN LARGA Y MUY FINA



EXTENSIÓN CON ESTRÍAS TRANSVERSALES



EXTENSIÓN CON ESTRÍAS LONGITUDINALES



EXTENSIÓN CON ZONAS SIN SANGRE



EXTENSIÓN CON EXTREMO FINAL MUY DESFLECADO

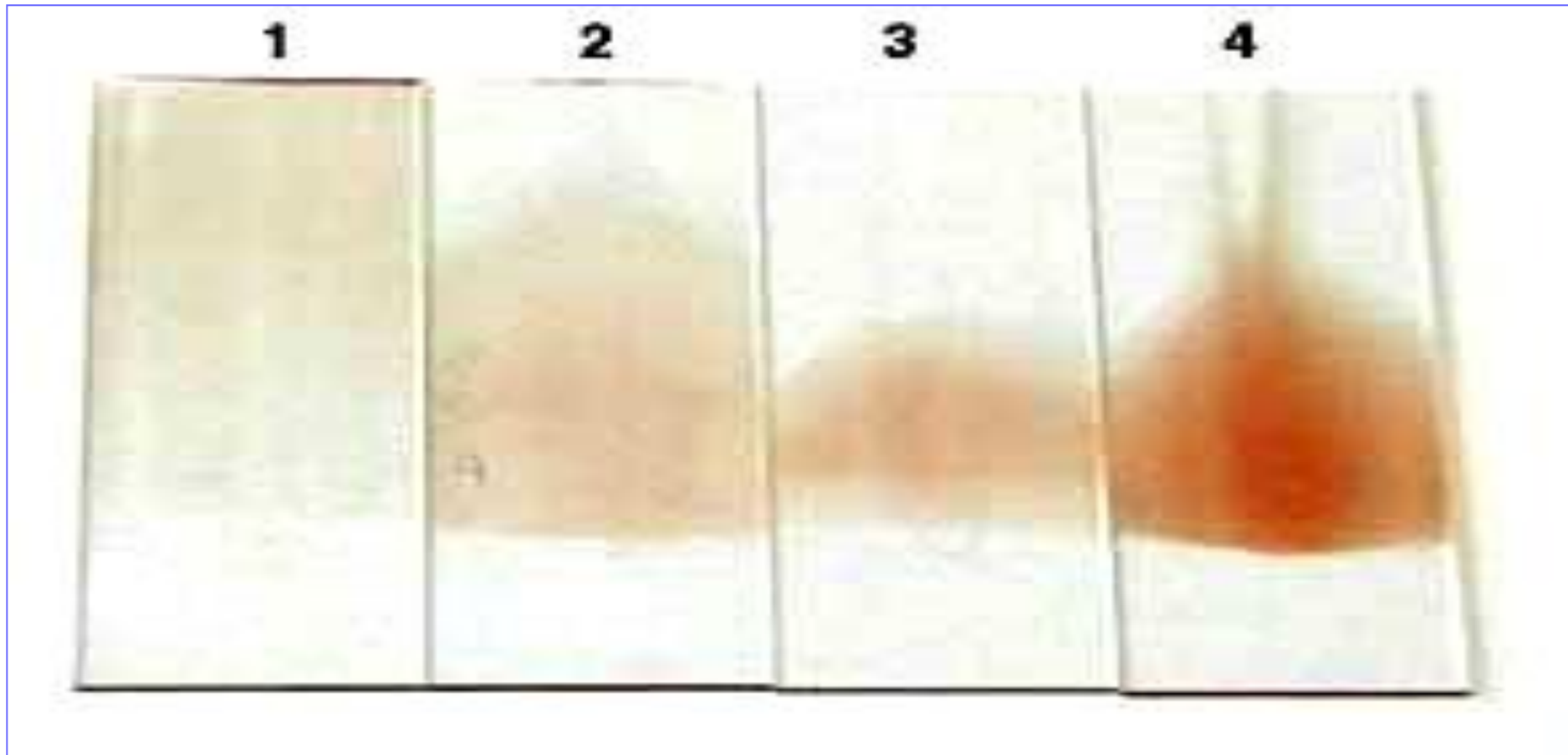
Calidad en los frotis de Sangre Periférica

Formas erróneas del Frotis



Calidad en los frotis de Sangre Periférica

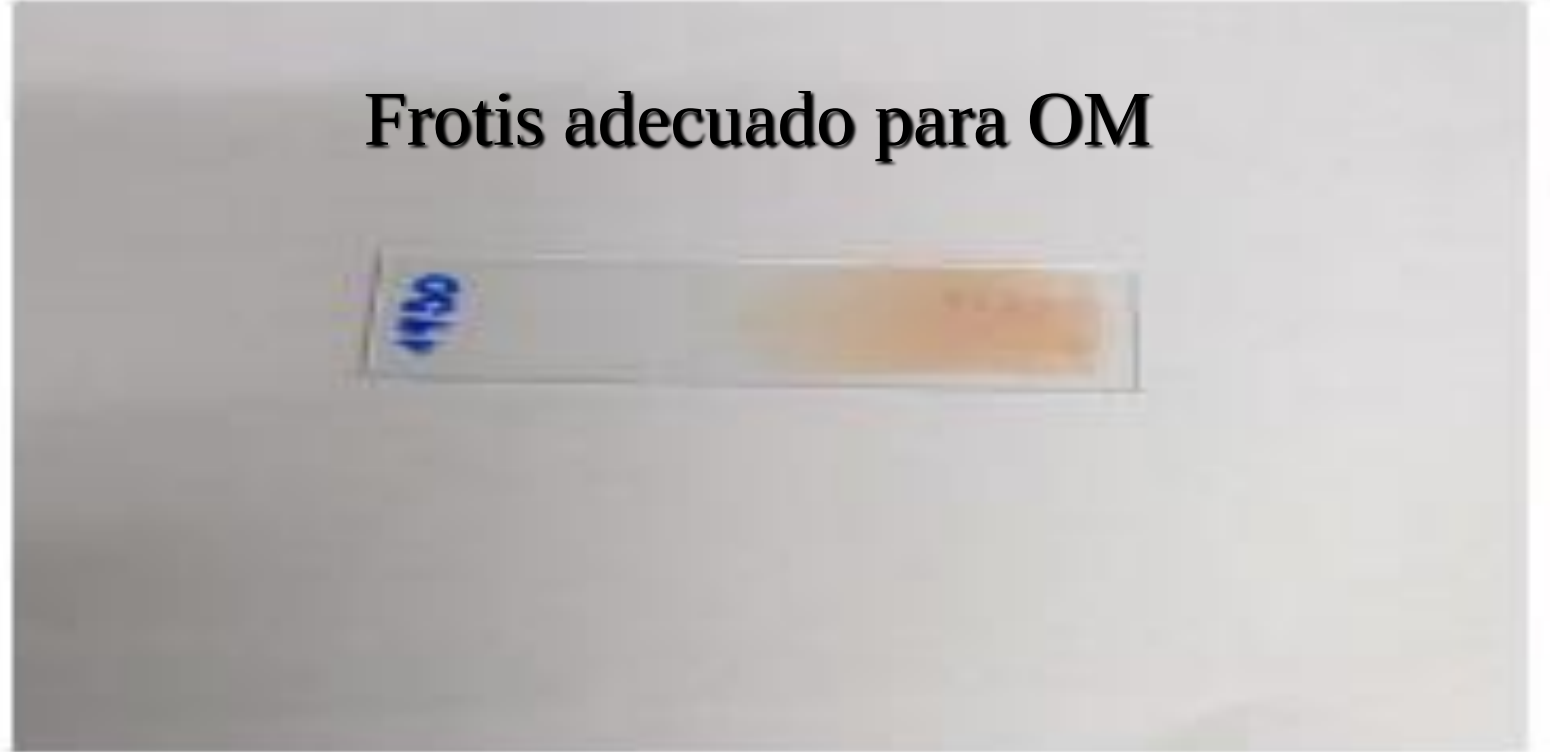
Formas erróneas del Frotis



Calidad en los frotis de Sangre Periférica



Frotis adecuado para OM



Coloración de frotis de sangre periférica

Principio:

Se basa en la diferencia de pH de las distintas estructuras celulares. Cada componente celular tendrá apetencia tintorial por el colorante de pH antagónico.

- Núcleos celulares: desarrollan reacciones ácidas, tendrán apetencia por colorantes básicos (basófilos).
- Citoplasmas celulares: desarrollan reacciones alcalinas, tendrán apetencia por colorantes ácidos (acidófilos).
- Las granulaciones y organelas pueden presentar apetencia por distintos colorantes.

Coloración de May-Grünwald-Giemsa

Etapas

- Fijación-tinción: en esta etapa actúa el reactivo de May-Grünwald, y utiliza el efecto desnaturizante del alcohol metílico sobre las proteínas séricas y celulares. Mayor adhesión celular al vidrio. Tiempo empleado, 50'' - 60''; pH=6,8.

Reactivos

Solución de May-Grünwald:

- Eosinato de azul de metileno 0,25gr
- Alcohol metílico puro-neutro 100ml

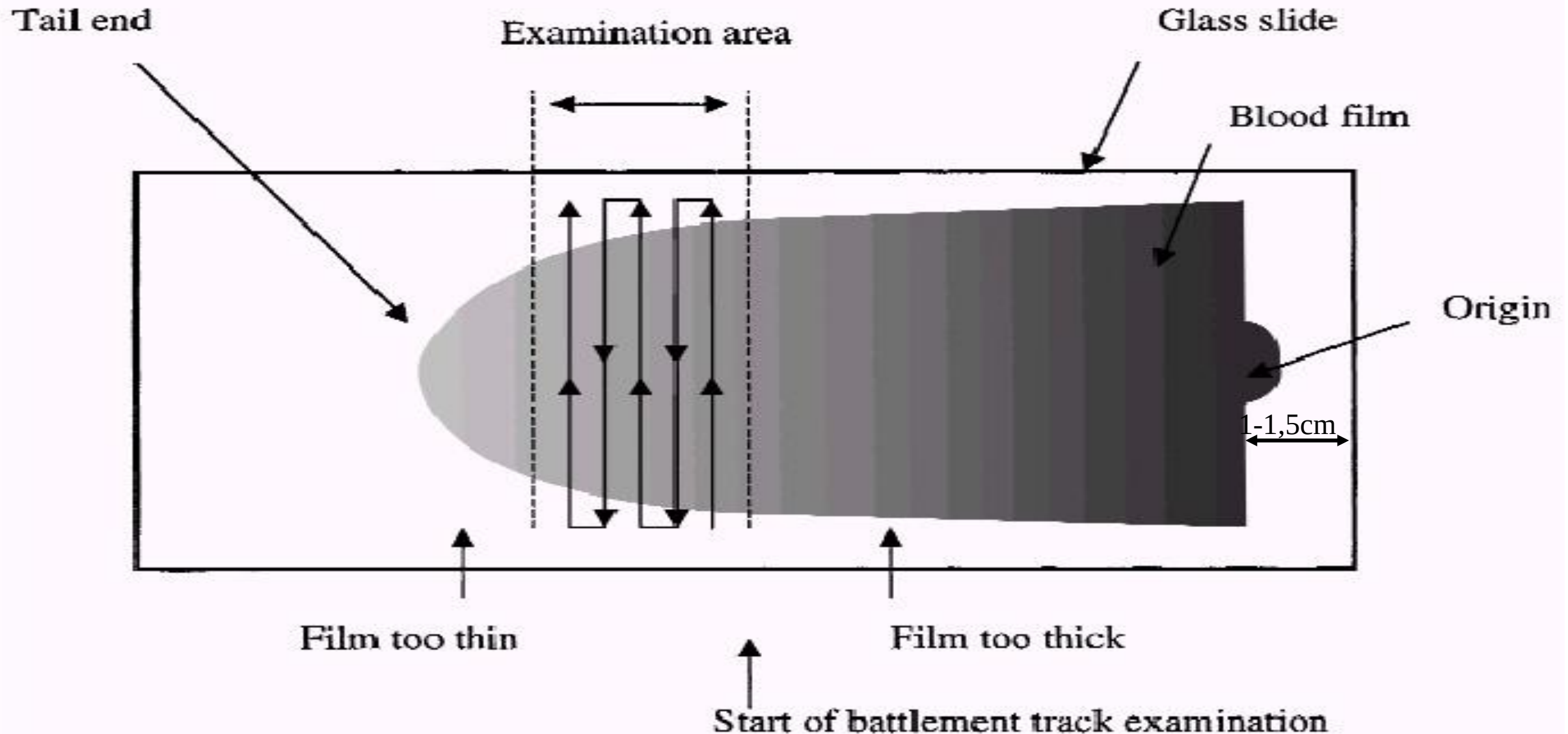
Solución de Giemsa:

- Azur II Eosina 3,0gr
- Azur II 0,80gr
- Glicerina 125,0gr
- Alcohol metílico puro-neutro 375ml

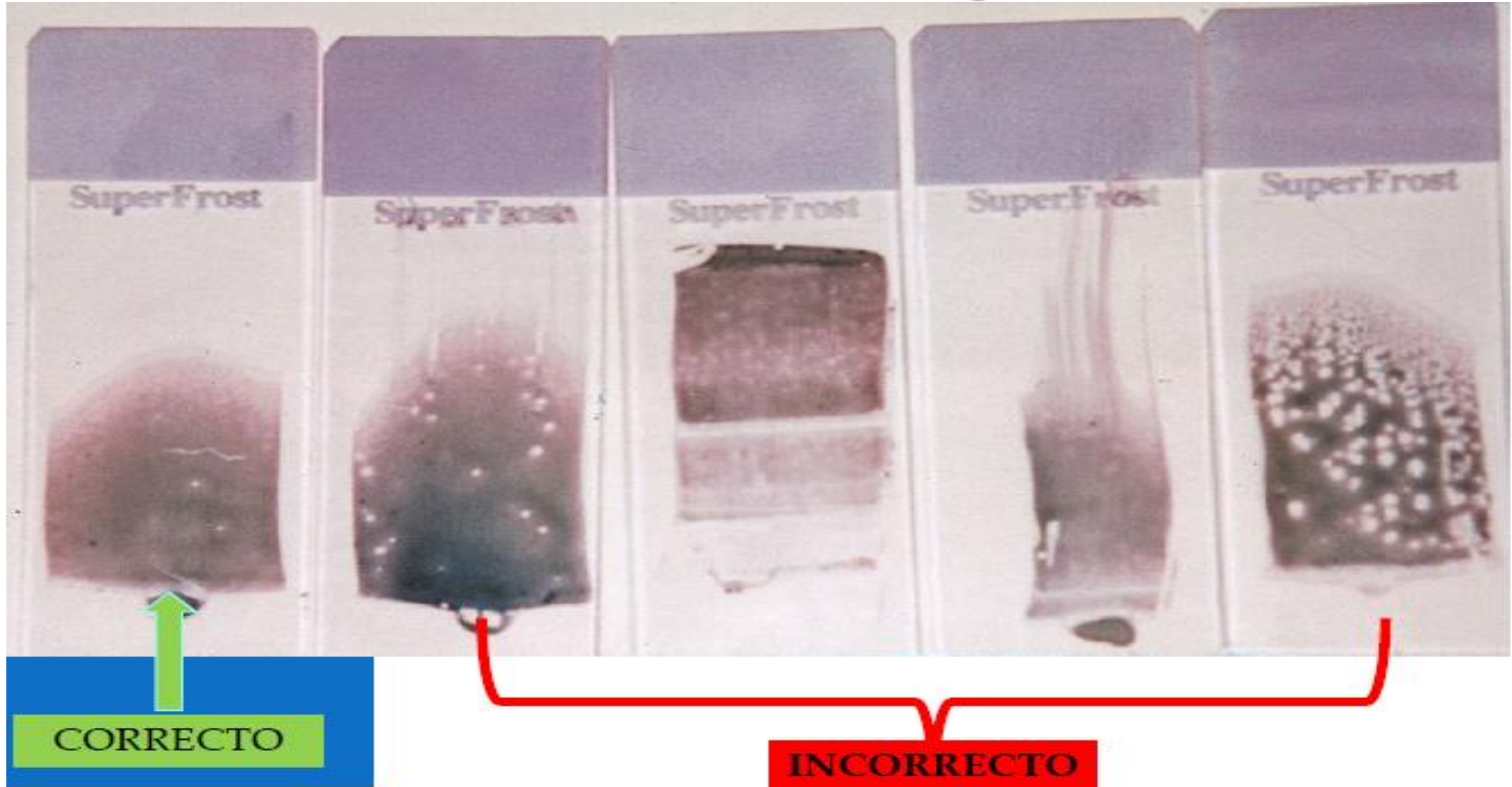
Una buena extensión : tres áreas

- ❖ Zona excesivamente gruesa: "cabeza"(aumento de linfocitos)
- ❖ Zona excesivamente fina : final de la extensión (neutrófilos y monocitos)
- ❖ Zona ideal: situada entre las anteriores ("zona intermedia") con reparto equilibrado de células

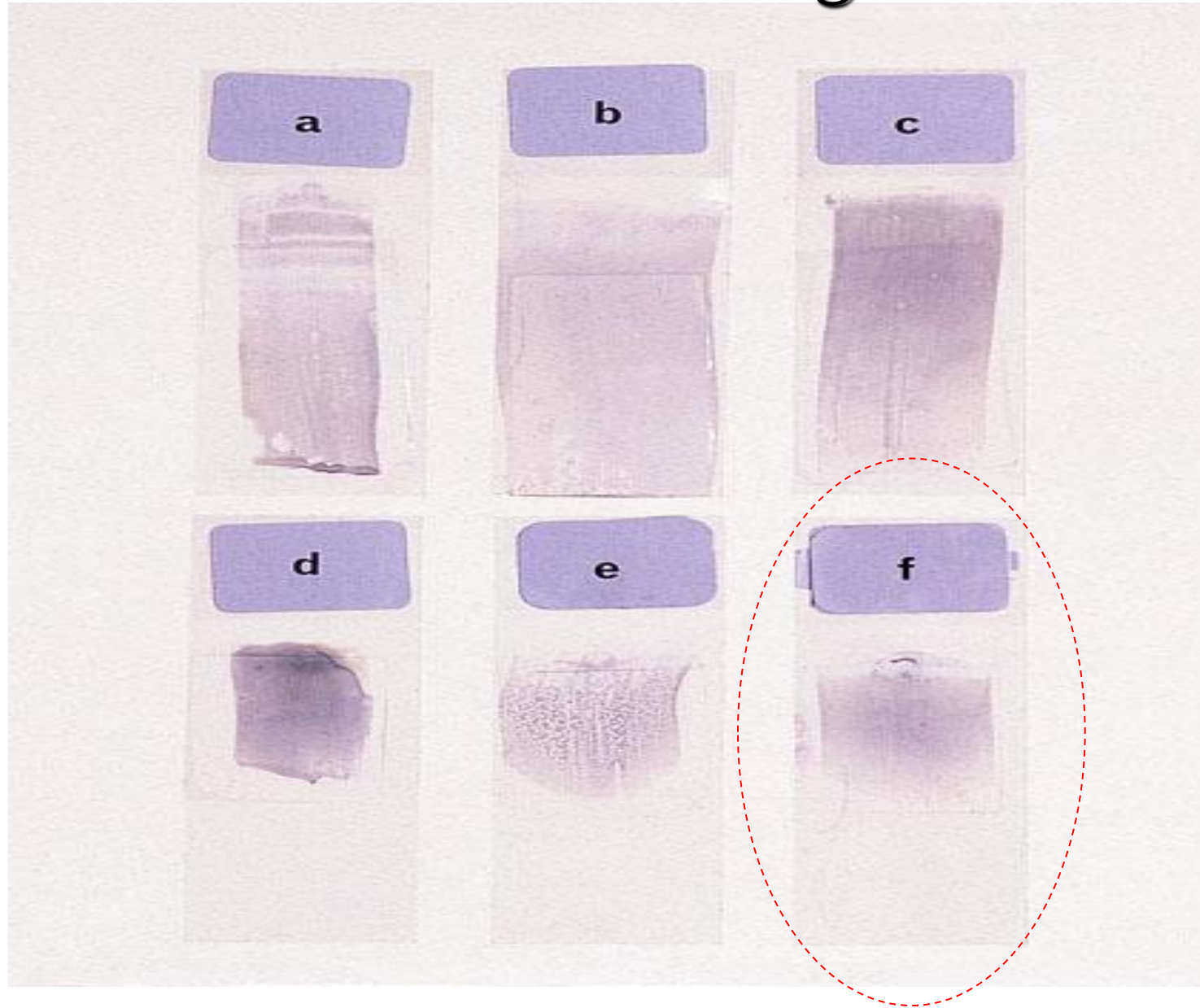
Observación de los frotis de Sangre Periférica



Calidad en los frotis de Sangre Periférica



Calidad en los frotis de Sangre Periférica



Etapas en la examinación de frotis de sangre periférica

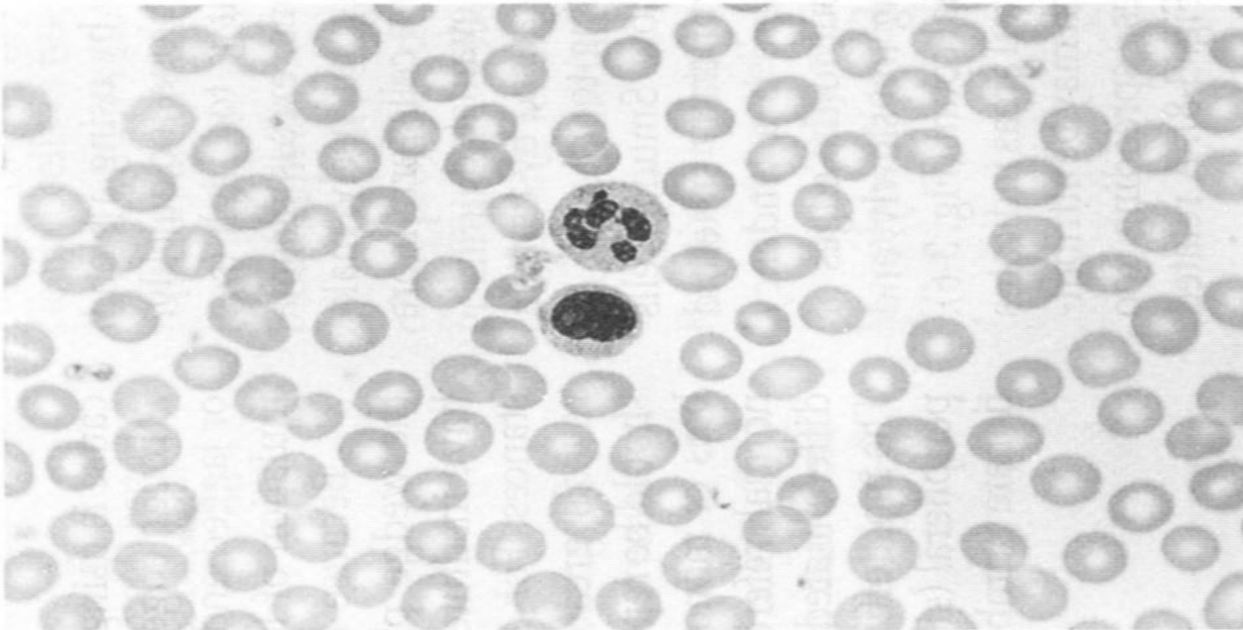
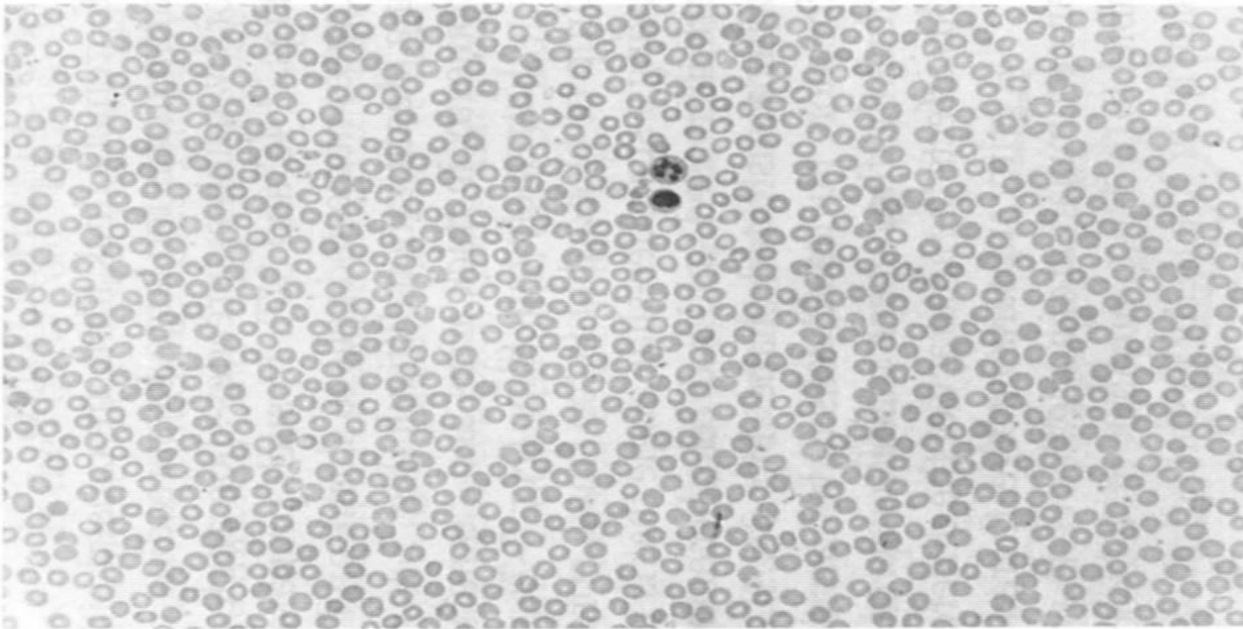
1- Examinación en baja resolución (objetivo 10X)

- Determinar la calidad integral del frotis: coloración, artificios, integridad.
- Observar la distribución celular en el frotis: examinar bordes, perifería y centro en busca de agrupaciones de elementos formes, y también anormales.
- Ubicarse en el área óptima para realizar la observación detallada y enumeración de las células: correcta distribución de globulos rojos basándose en la correcta coloración central de los mismos, evitar zonas con presencia de precipitados o células dañadas

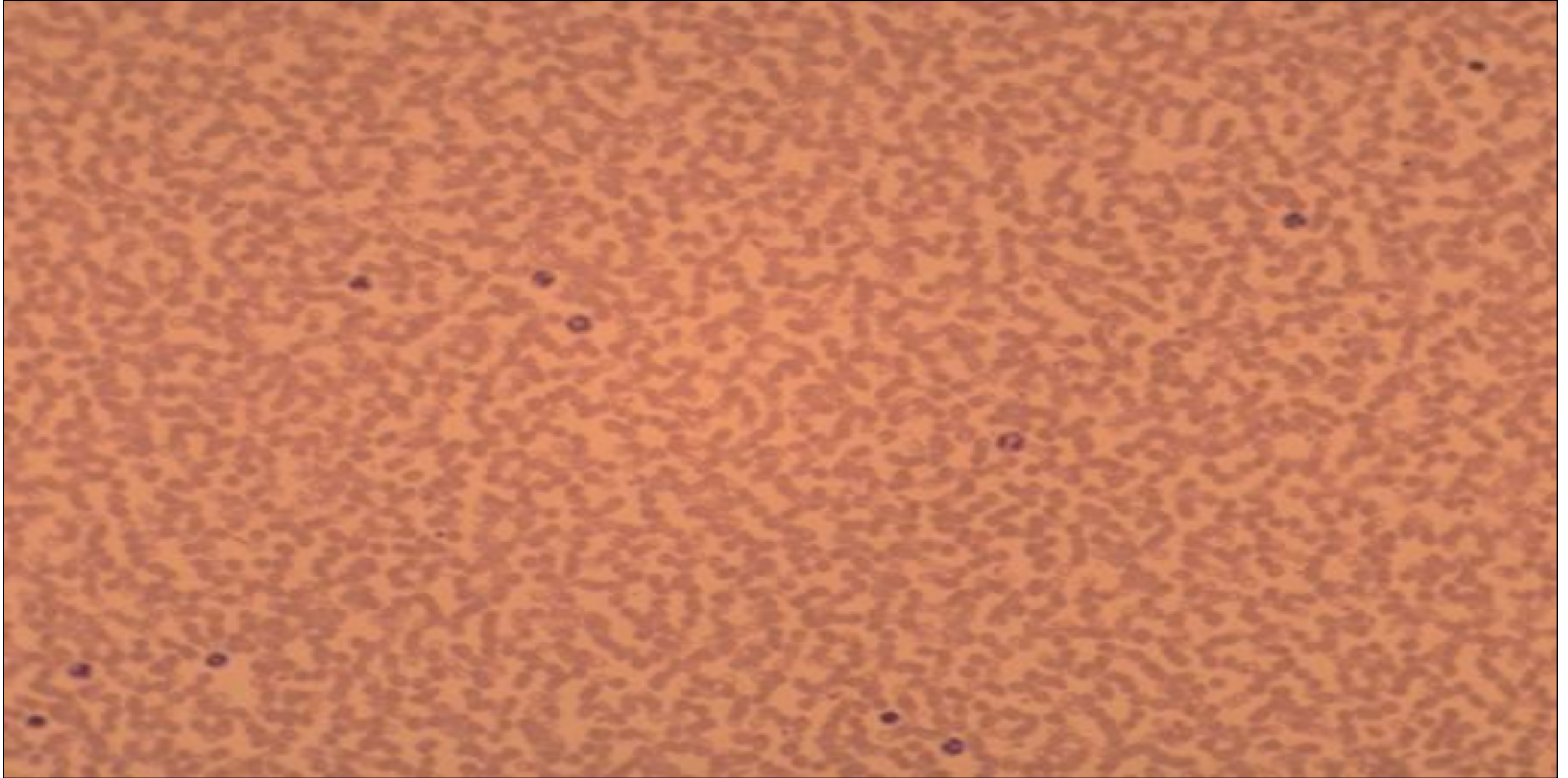
Calidad en los frotis de Sangre Periférica

Examinación de área X 10

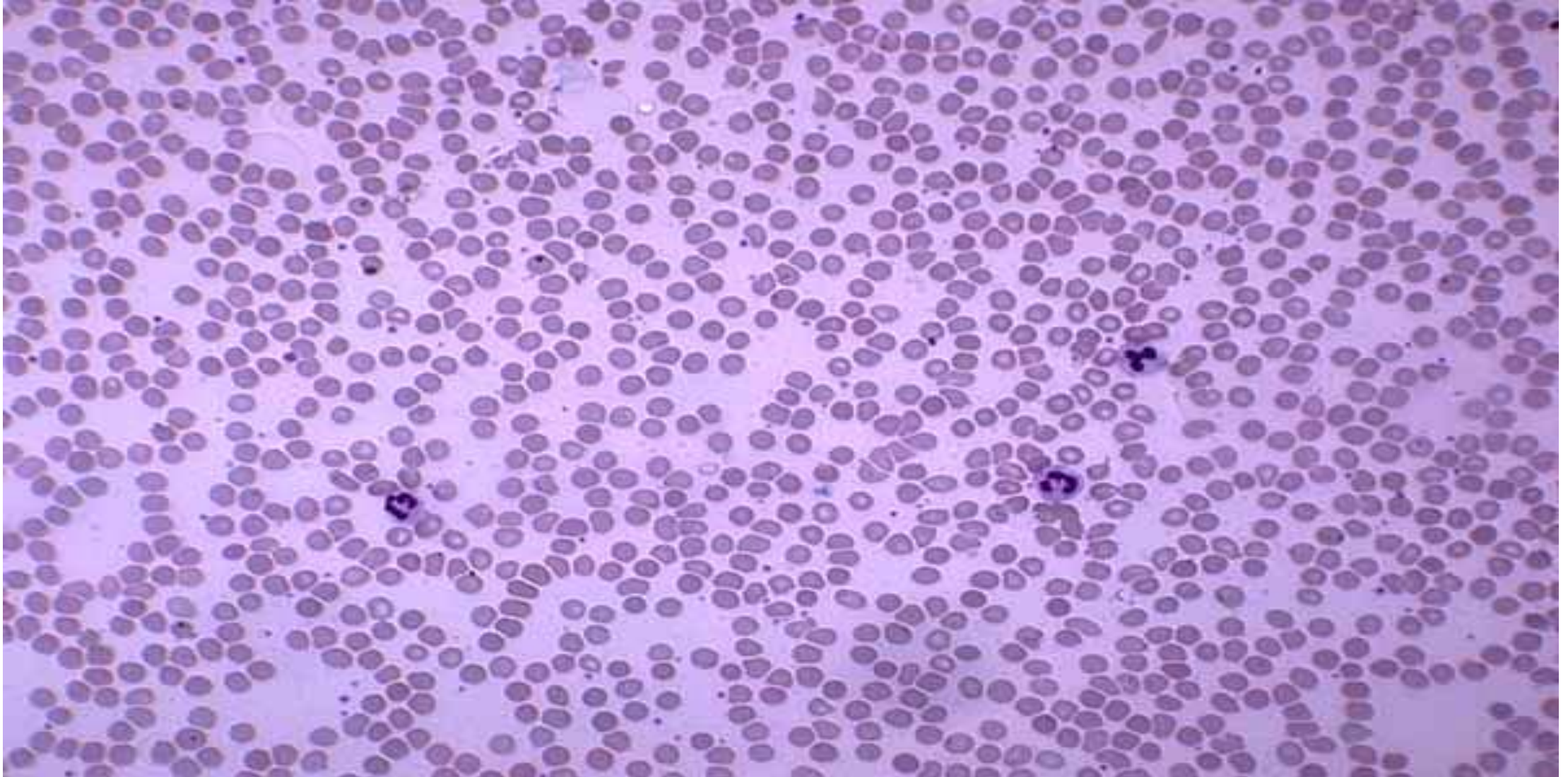
Frotis adecuado para examinación



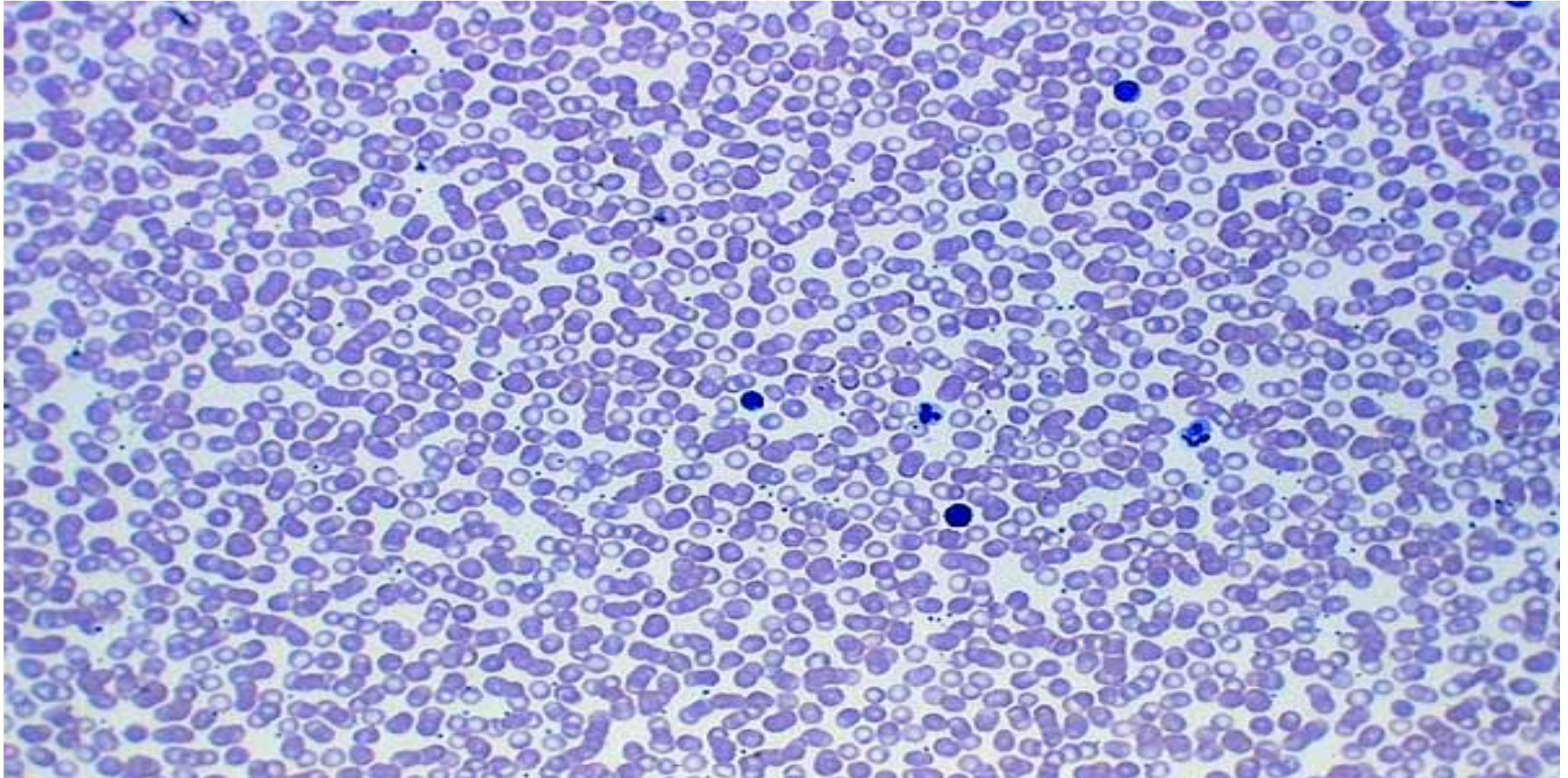
1- Examinación en baja resolución (objetivo 10X)



1- Examinación en baja resolución (objetivo 10X)

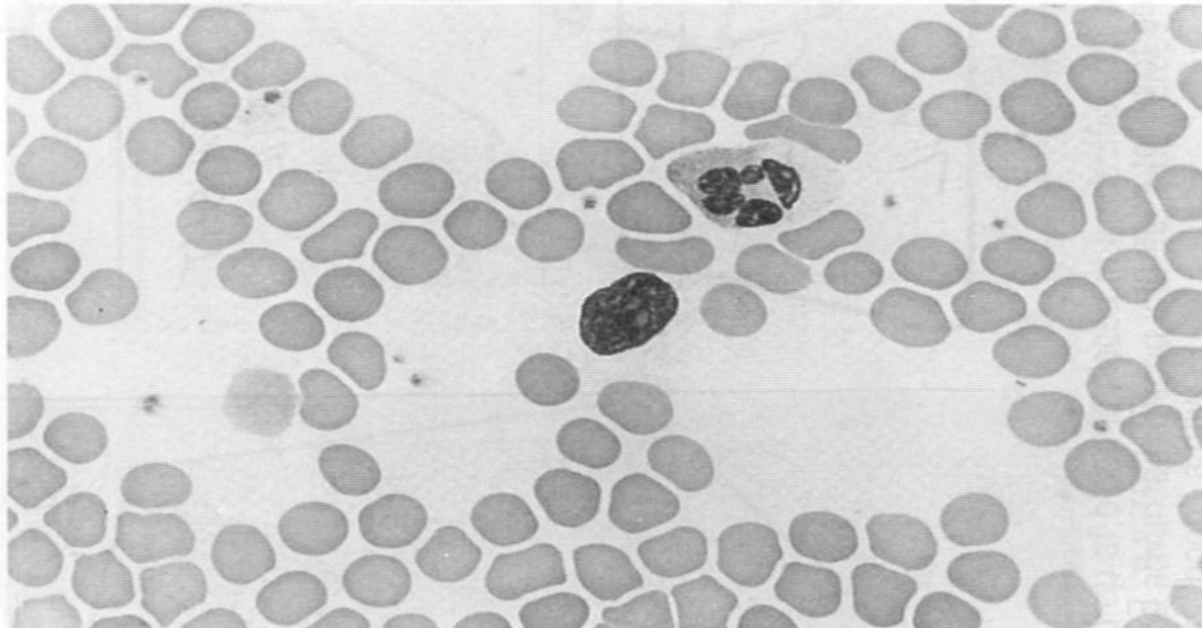
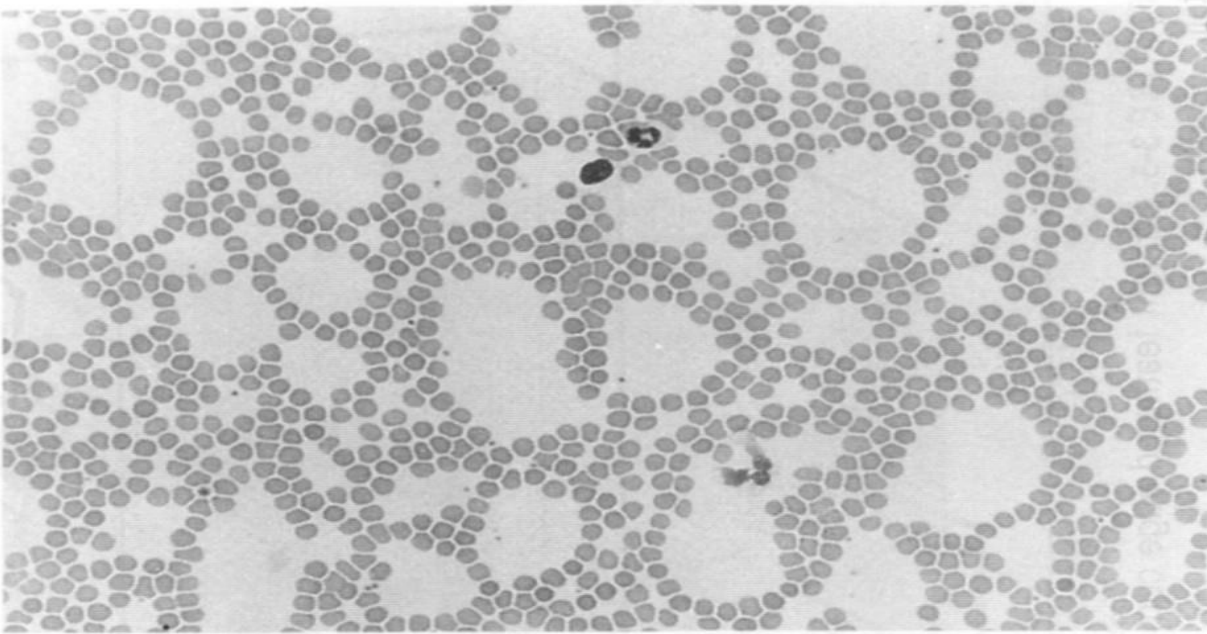


1- Examinación en baja resolución (objetivo 10X)



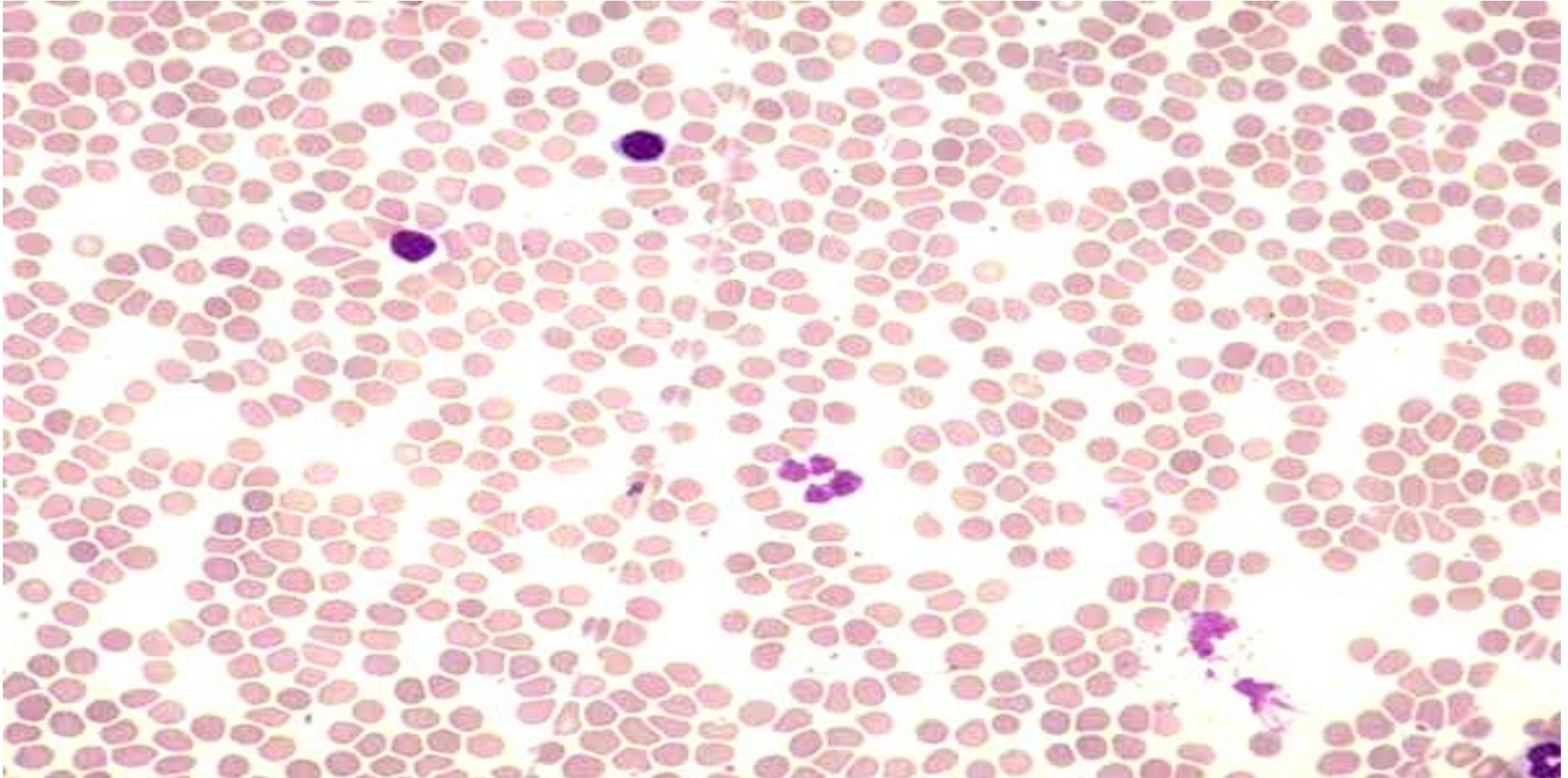
Calidad en los frotis de Sangre Periférica

Extendido muy delgado X 10

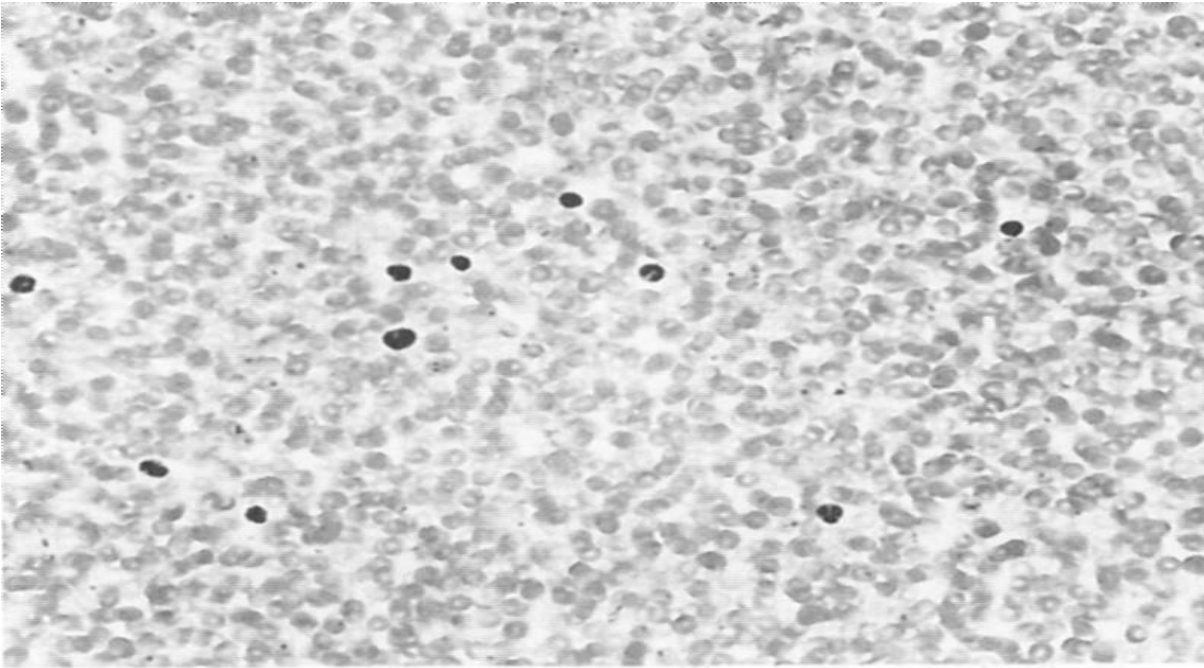


Calidad en los frotis de Sangre Periférica

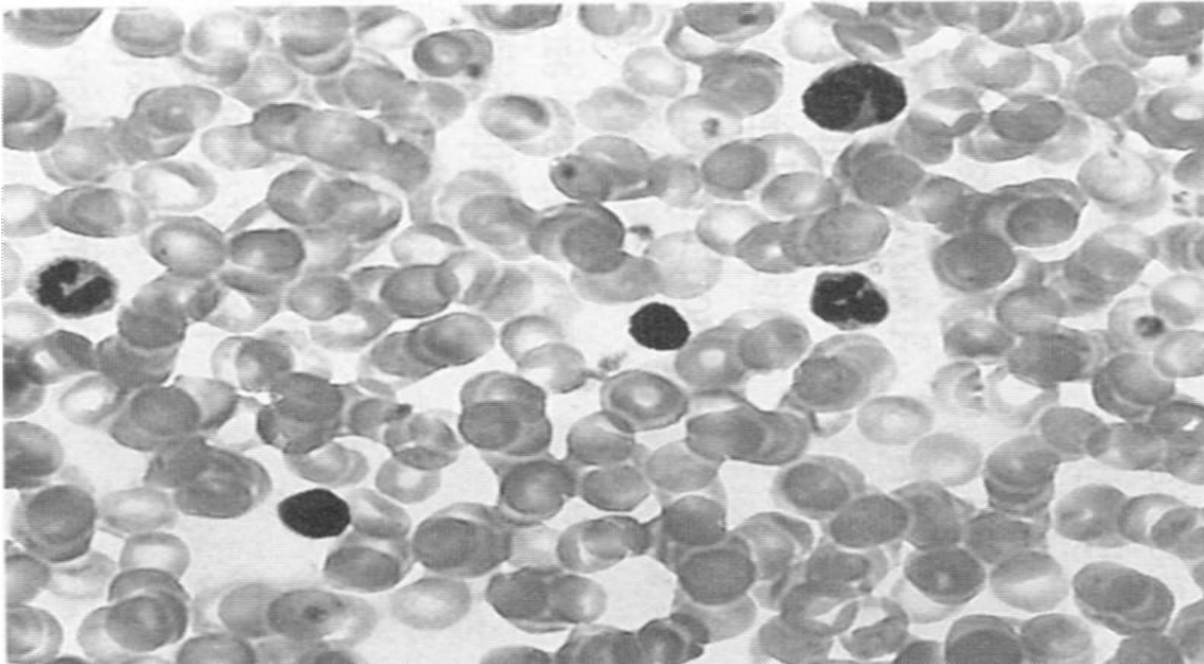
Extendido muy delgado X 10



Calidad en los frotis de Sangre Periférica

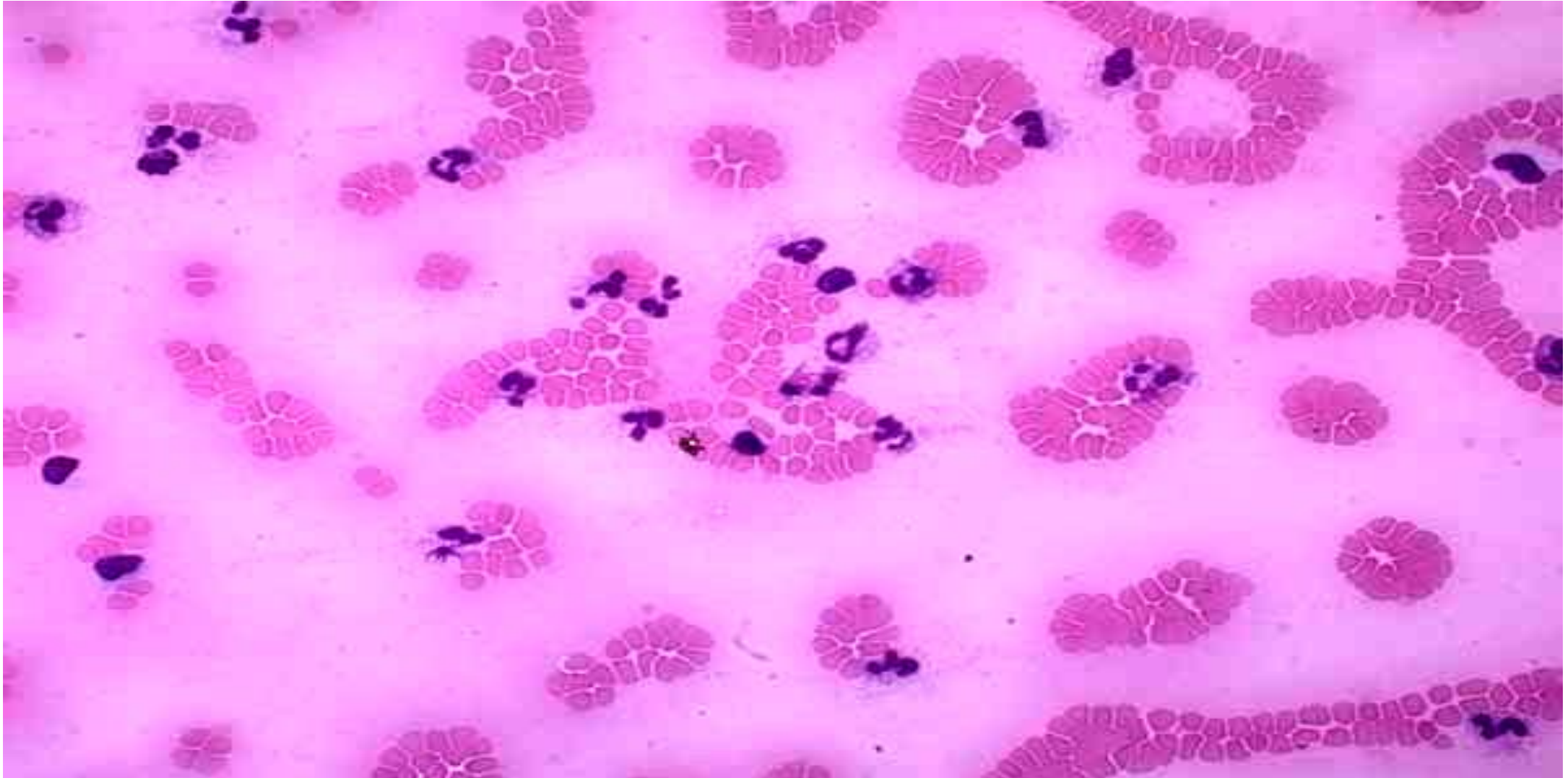


**Extendido muy grueso para
examinación X 10**



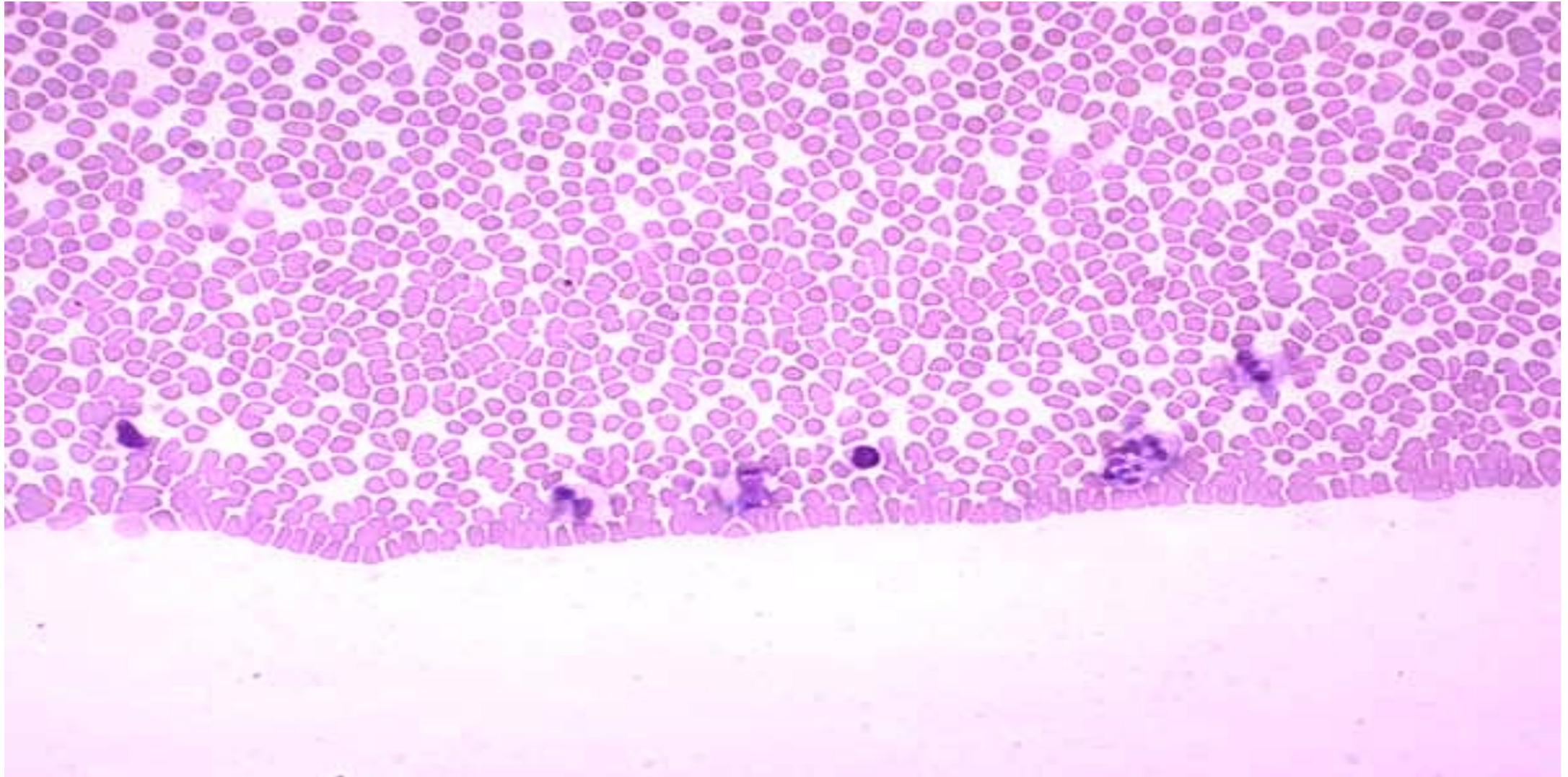
1- Examinación en baja resolución (objetivo 10X)

Excesiva acumulación de células - distribución celular irregular



1- Examinación en baja resolución (objetivo 10X)

Excesiva acumulación de células - distribución celular irregular (borde)



Etapas en la examinación de frotis de sangre periférica

2- Examinación en alta resolución (objetivo 40X)

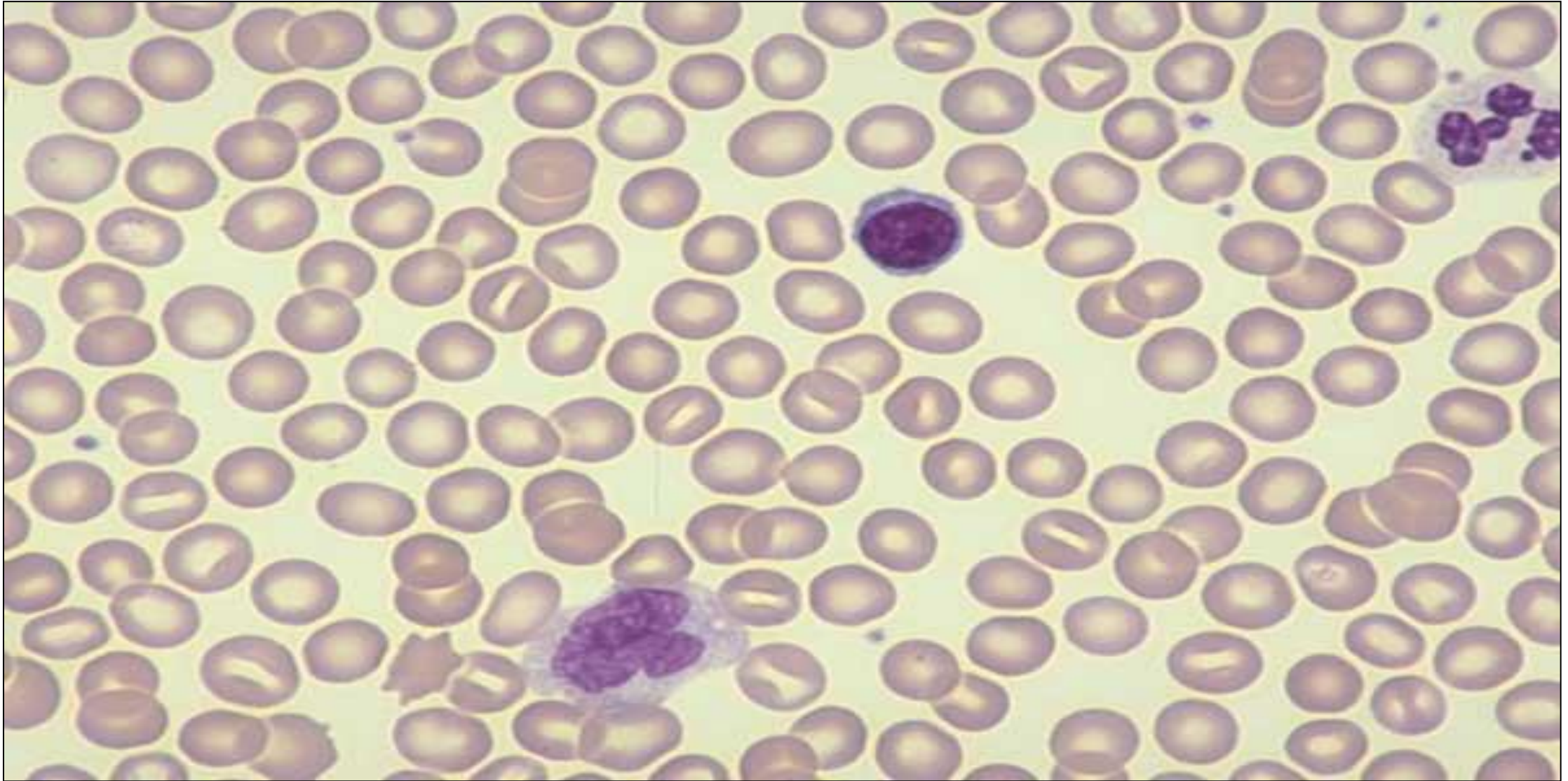
- Estimación indirecta de los globulos blancos:

GB/campo	Nº total estimado de GB/mm ³
2-4	4000-7000/mm ³
4-6	7000-10000/mm ³
6-10	10000-13000/mm ³
10-20	13000-18000/mm ³



- Correlacionar el valor de GB estimado con el recuento absoluto (manual ó automatizado) realizado.
- Evaluación morfológica de GB y registro de anomalías presentes (cambios tóxicos).
- Apreciación morfológica de eritrocitos, anisocitosis, poiquilocitosis, hipocromía.

2- Examinación en alta resolución (objetivo 40X)



Etapas en la examinación de frotis de sangre periférica

3- Examinación en inmersión (objetivo 100X)

- Realización de la Fórmula Leucocitaria Diferencial (incluyendo todos los GB). Si se observa la presencia de GR nucleados informarlos como número de GR nucleados (eritroblastos) cada 100 GB, y a continuación corregir el valor absoluto de GB/mm³ :

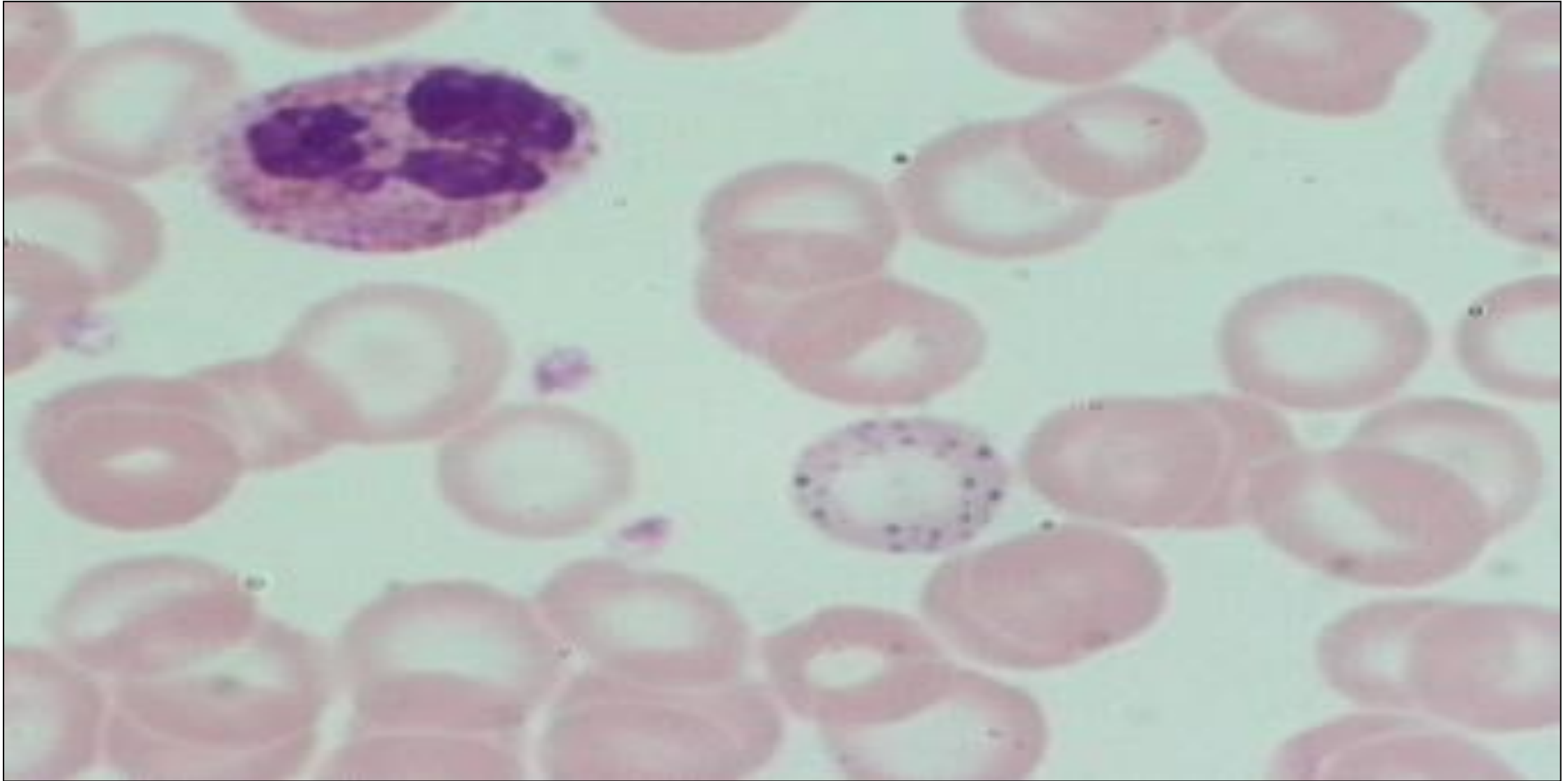
$$\text{GB corregidos/mm}^3 = \frac{\text{GB/mm}^3 \times 100}{100 + \text{N}^\circ \text{ de GR nucleados/100GB}}$$

- Evaluación de características eritrocitarias: anisocitosis, poiquilocitosis, hipocromía, policromatofilia, inclusiones intraeritrocitarias.
- Observación de la morfología plaquetaria y estimación de su cantidad: recuento del N° de plaquetas en 10 campos (en zona óptima de 100 GR);

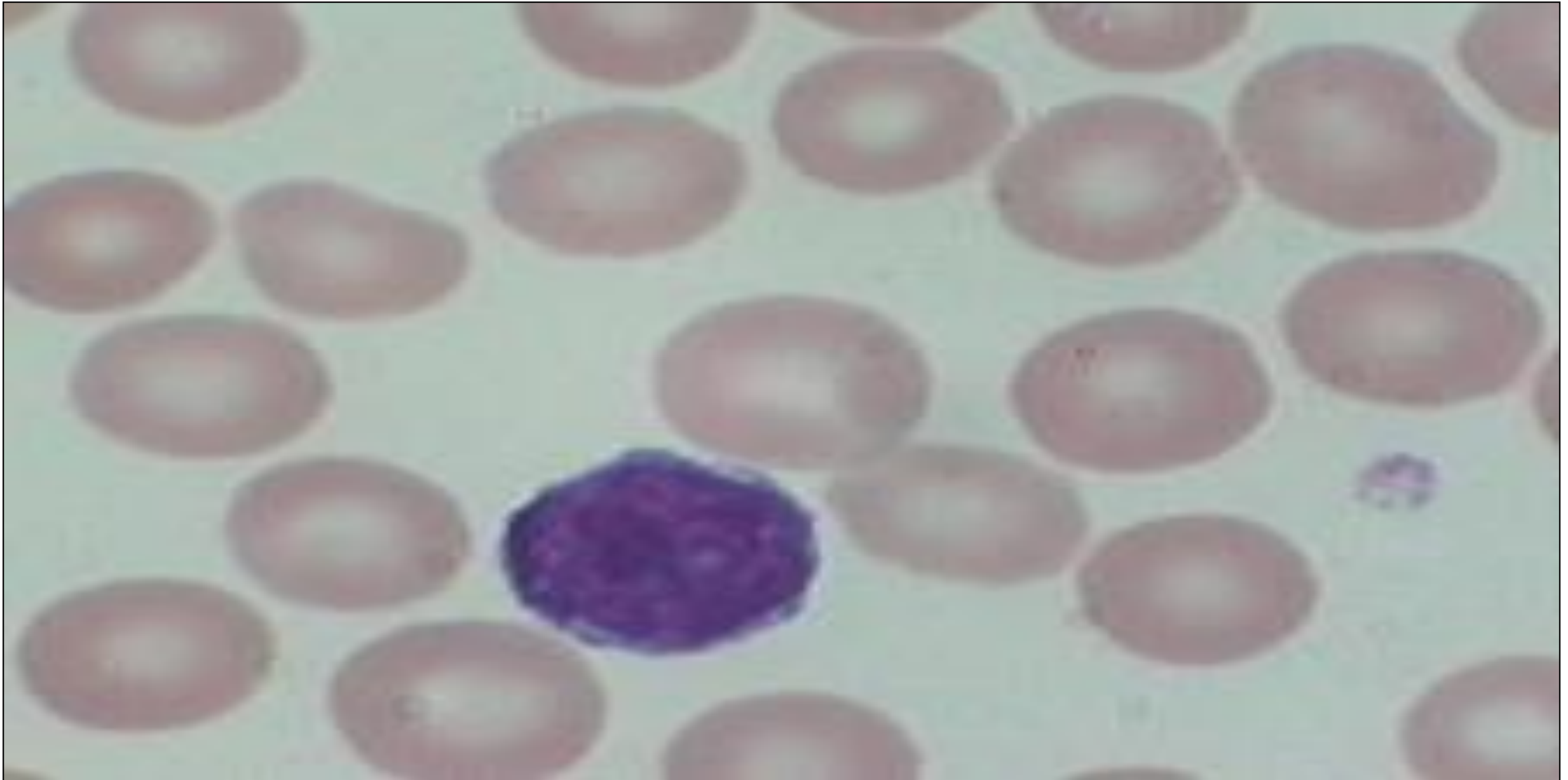
$$\text{Est. Plaq./mm}^3 = \frac{\sum \text{N}^\circ \text{ Plaq. (10 cpos.)} \times \text{N}^\circ \text{ de GR/mm}^3}{1000}$$

... ¿?

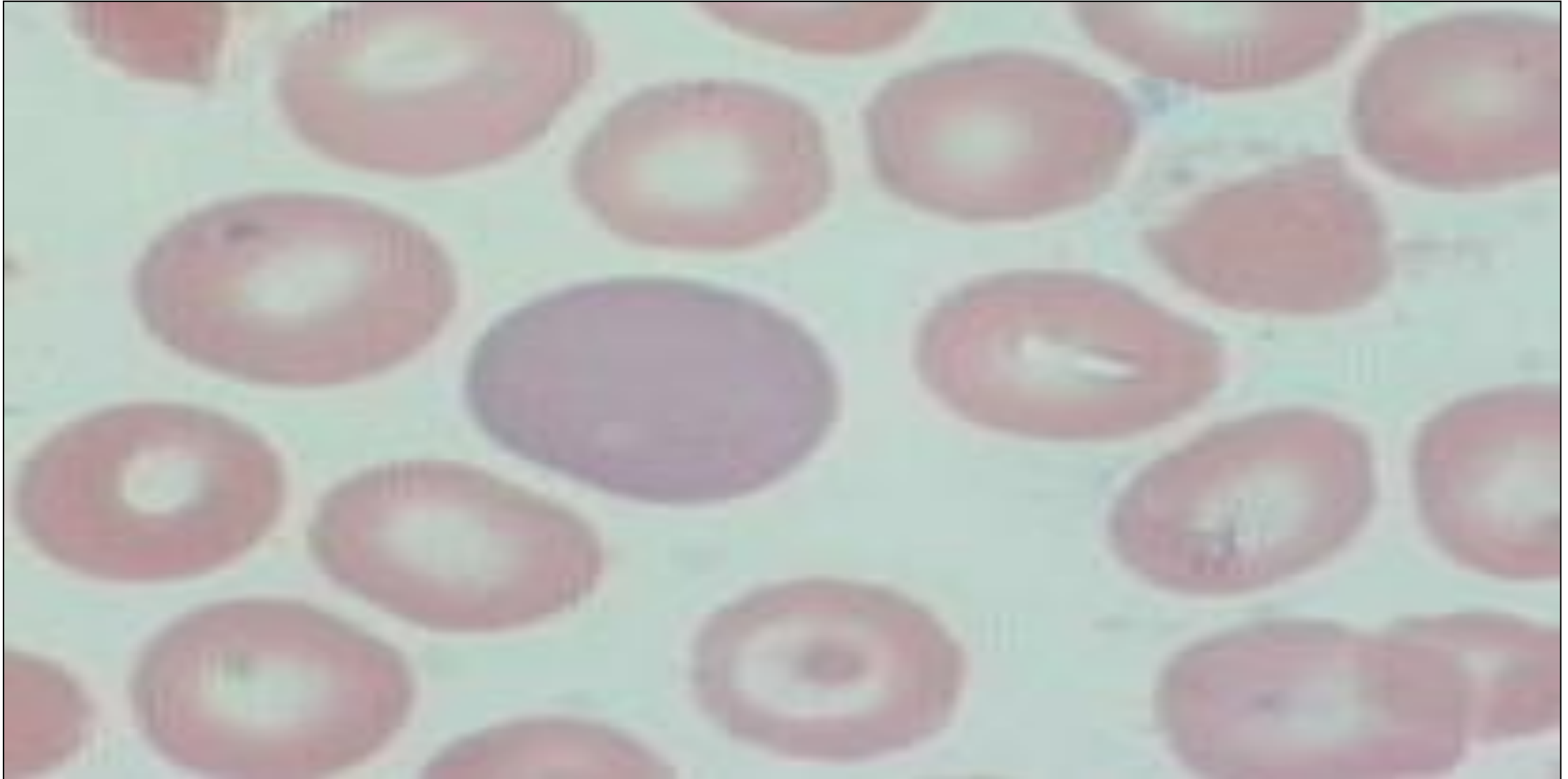
3- Examinación en inmersión (objetivo 100X)



3- Examinación en inmersión (objetivo 100X)



3- Examinación en inmersión (objetivo 100X)



Fuentes de error

Calidad de la tinción

Estructura	Coloración Óptima	Coloración Ácida	Coloración Alcalina
Nucleos en leucocitos	PURPURA	PÁLIDO	OSCURO
Nucleolos	VISIBLES	VISIBLES	NO VISIBLES
Citoplasma de linfocitos	AZUL	AZUL INTENSO	AZUL OSCURO
Granulaciones Neutrófilas	PEQUEÑAS, PURPURAS	MUY PEQUEÑAS, DIFÍCIL OBS.	GRUESAS Y OSCURAS
Granulaciones Eosinófilas	NARANJA, REFRINGENTE	NARANJA, ROJIZA	MARRON-NARANJA, AZULADAS
Eritrocitos	ROSADO	ROJIZO	GRIS PLOMIZO

VARIABLES QUE PUEDEN INFLUIR EN LA FÓRM. LEUC. MEDIANTE EL MÉTODO VISUAL

- ❖ Distribución irregular y no aleatoria de los leucocitos en la extensión.
- ❖ Realización del recuento en un lugar inadecuado.
- ❖ Variaciones de la calidad de la extensión.
- ❖ Observación de un número insuficiente de células.
- ❖ Pericia del observador en la identificación de determinados leucocitos.

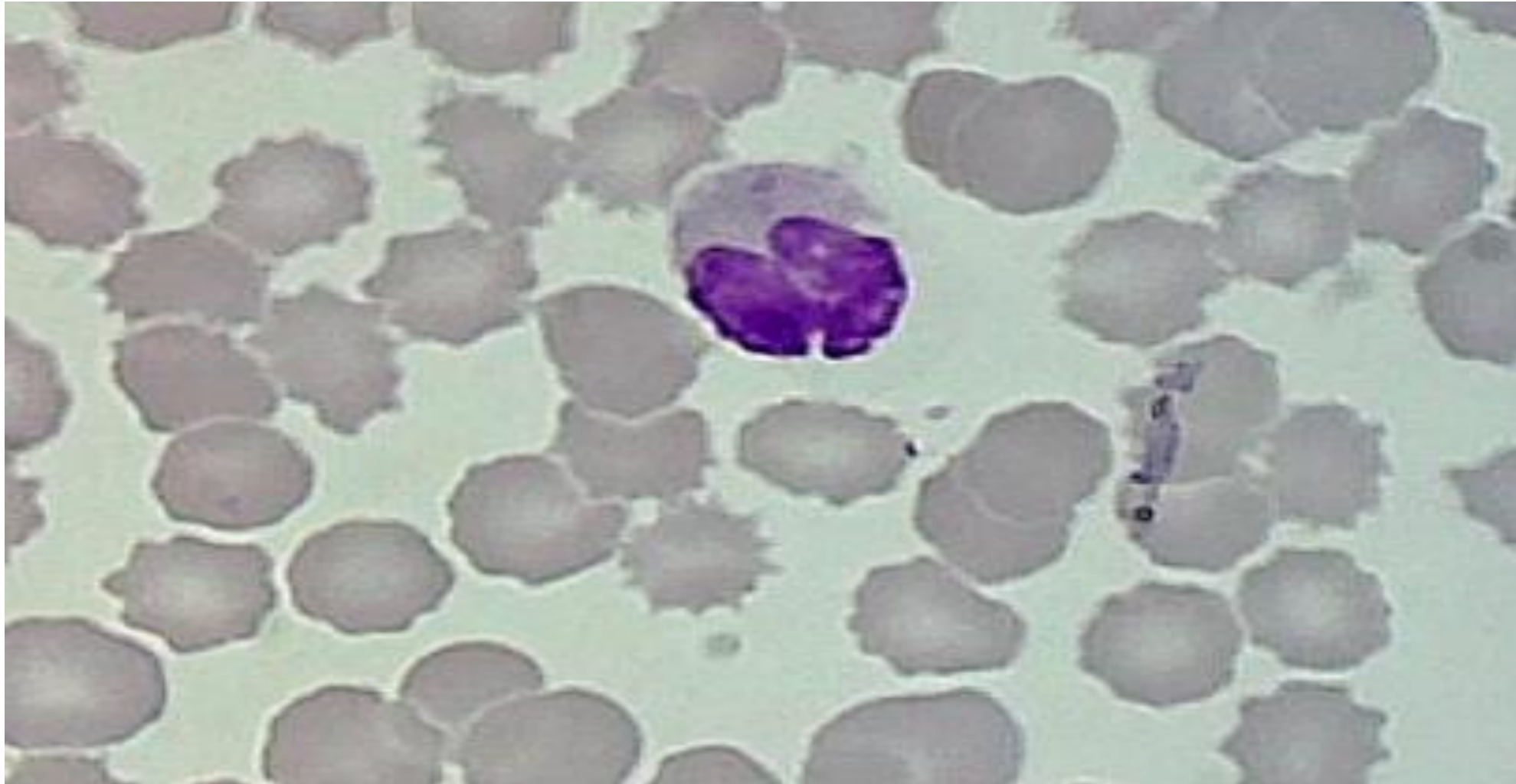
Artificios en los frotis

Empleo de anticoagulante (sales de EDTA):

- **Células normales** pueden mantener una morfología satisfactoriamente por 5 horas.
- **Células anormales** presentan cambios dentro de los 60' de contacto con él anticoagulante.
- Monocitos presentan cambios inmediatamente después de entrar en contacto con los anticoagulantes (vacualización).
- Se observan alteraciones morfológicas en la población de glóbulos rojos, luego de aproximadamente 6 horas.
- Punteado basófilo y Cuerpos de Döhle pueden **desaperecer** en contacto con EDTA.
- La distribución (aglomeración), morfología, y granularidad plaquetaria se ven alteradas en presencia de EDTA.
- Secado insuficiente del frotis previo a su coloración: prolongaciones citoplasmáticas en Li., falsa hipocromía en eritrocitos, disminución en tamaño de leucocitos normales.

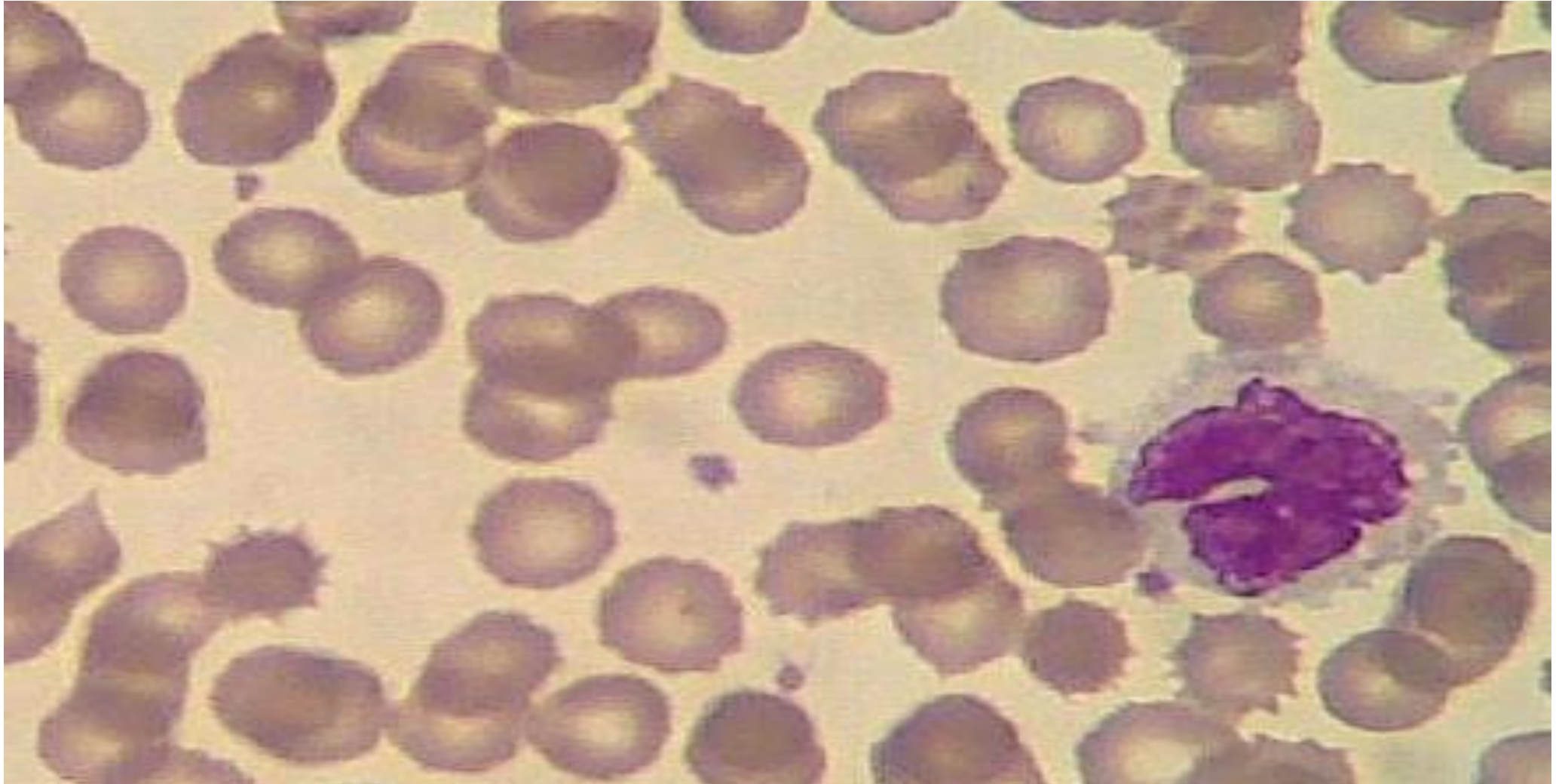
Artificios

Alteraciones morfológicas – Contacto con EDTA



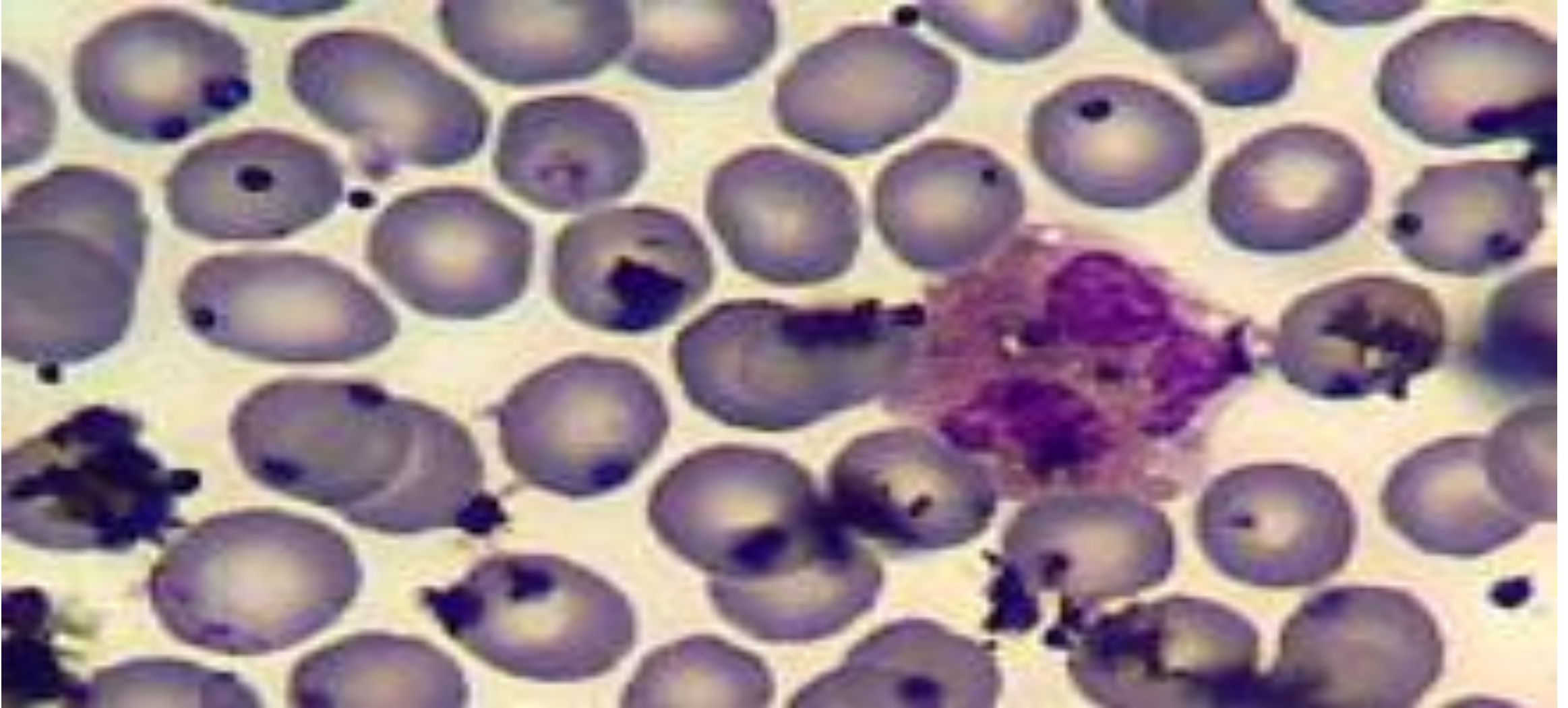
Artificios

Alteraciones morfológicas – Contacto con EDTA



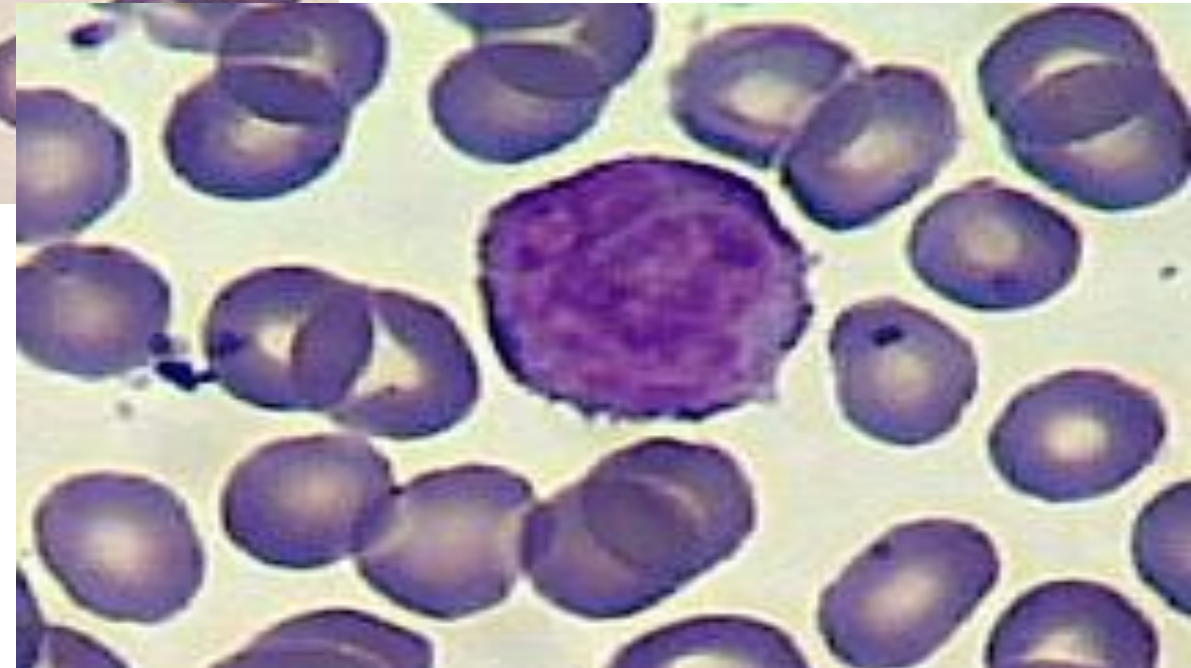
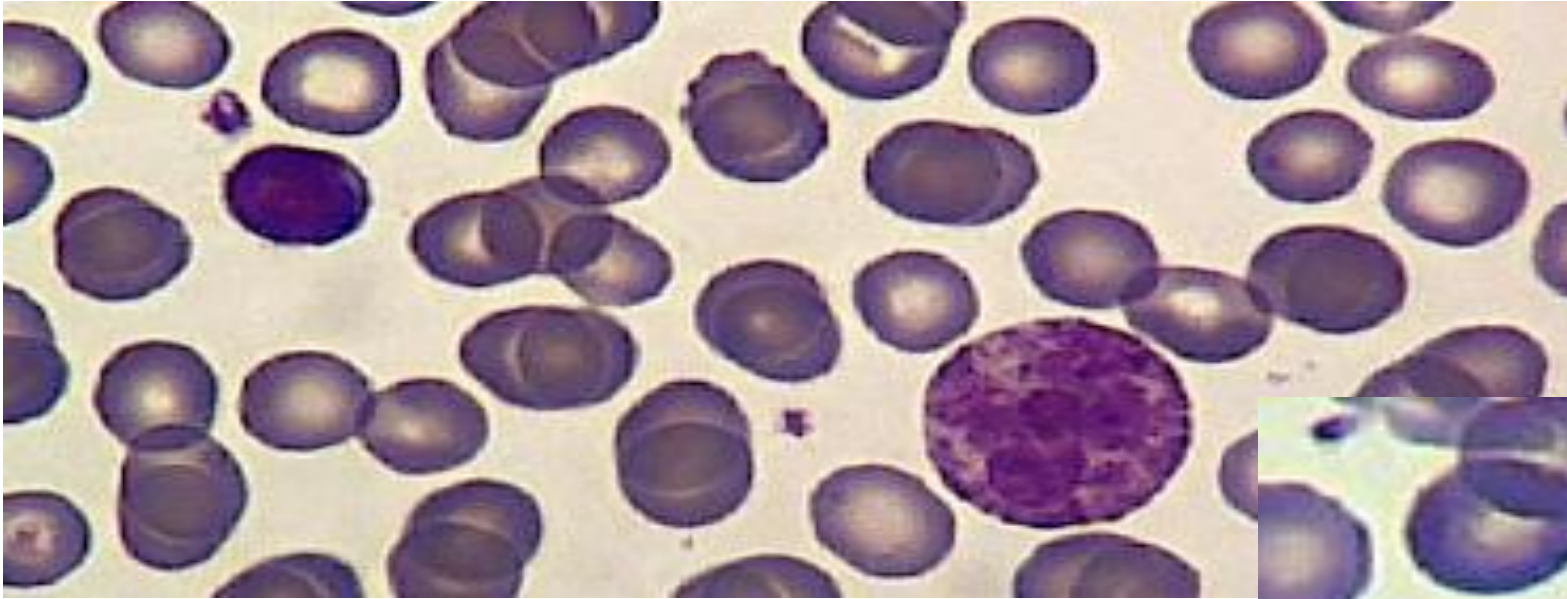
Artifícios

Alteraciones morfológicas – Exceso de tiempo de coloración

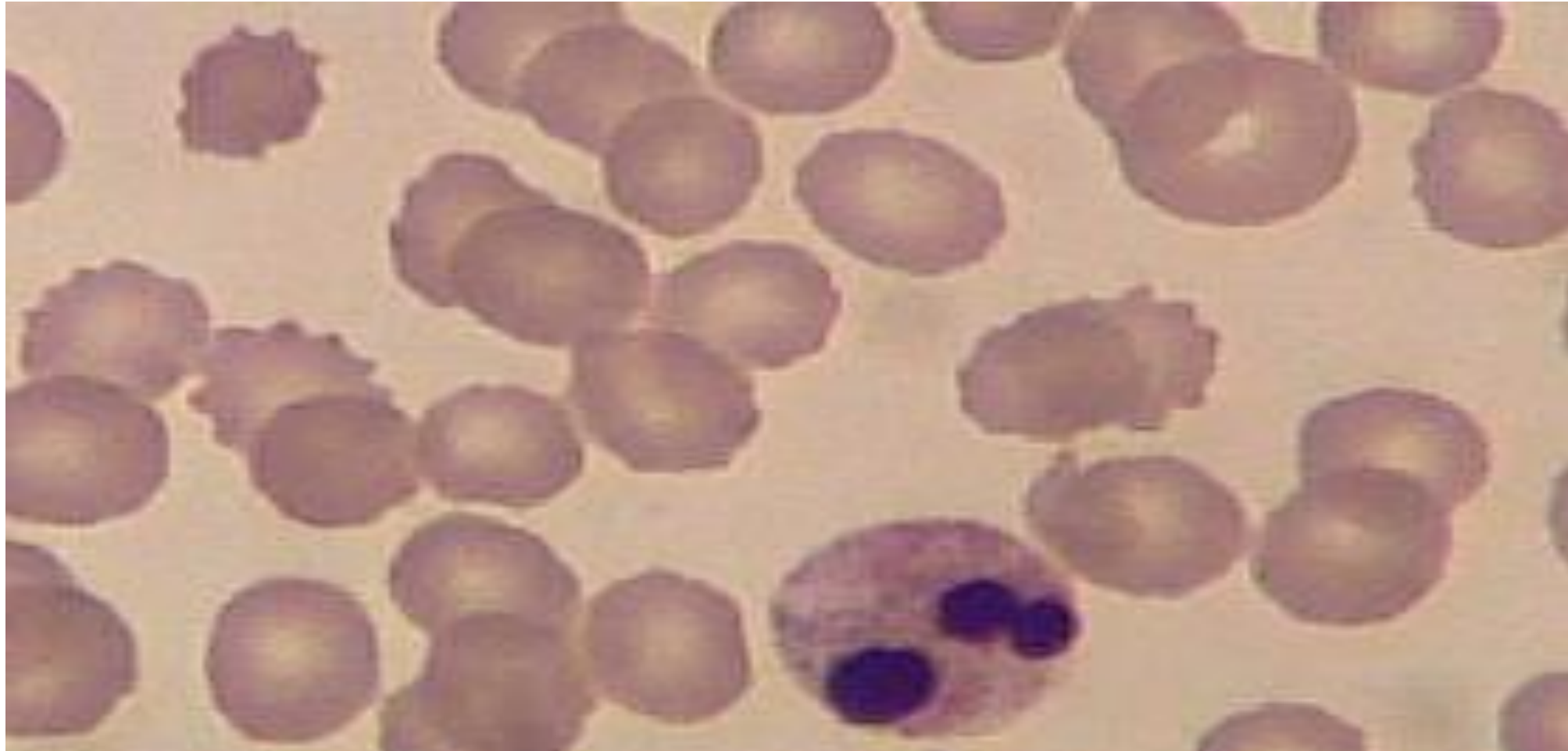


Artifícios

Alteraciones morfológicas – Colorante Giemsa muy concentrado



Artificios



Artifícios



**Contaminación con H₂O en la fijación
(anillos refringentes)**



**Nucleo de Li distorsionado por
contacto con anticoagulante**

Gracias por su atención...

cesarcollino2013@gmail.com



+54 9 351 624-5311