

Reconocimiento a la trayectoria de la Prof. Dra. Nilda Fink

Valor diagnóstico de la morfología eritrocitaria en las anemias

*Diagnostic value of red cell morphology in anemias**Valor diagnóstico da morfologia eritrocitária nas anemias*

- Fernando Daniel Ventimiglia^{1a}, María Alejandra Rivas-Ibargüen^{2b}, Analía Vildoza^{3c}, Miguel Ángel Orsilles^{4d}

¹ Doctor en Bioquímica, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata.

² Bioquímica Especialista en Hematología, UCC.

³ Bioquímica Especialista en Hematología, UNC.

⁴ Bioquímico Especialista en Hematología. Doctor en Ciencias Químicas, Universidad Católica de Córdoba.

^a Cátedra de Hematología, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata. Calle 47 y 115, La Plata (1900), Prov. Buenos Aires, Argentina.

^b Hospital de Niños de la Santísima Trinidad. Bajada Pucará esquina Ferrovianos. Barrio Crisol, Córdoba (5014). Prov. Córdoba, Argentina.

^c Servicio de Hemato-Oncología. Hospital Interzonal de Niños Eva Perón. Avenida Virgen del Valle 1050, San Fernando del Valle de Catamarca (4700). Prov. Catamarca. Argentina.

^d Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Católica de Córdoba. Avenida Armada Argentina 3555, Córdoba (X5016DHC), Prov. Córdoba, Argentina.

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

Resumen

A pesar de la disponibilidad de modernos equipos automatizados, el estudio de la morfología eritrocitaria en extendidos de sangre periférica continúa desempeñando un rol fundamental en el diagnóstico de las anemias. En 2005, el Grupo Internacional de Consenso para la Revisión en Hematología publicó un documento con los criterios homogéneos de acción recomendados para la selección de los frotis sanguíneos que deben ser analizados mediante microscopía. Recientemente, el Comité Internacional de Estandarización en Hematología (ICSH) elaboró una serie de recomendaciones para unificar la nomenclatura y graduar los hallazgos morfológicos anormales en el estudio de la sangre periférica. El objetivo de este trabajo fue presentar a los lectores una revisión del tema y las últimas recomendaciones de los grupos de expertos a nivel nacional e internacional para el estudio de las anemias mediante la evaluación de la morfología eritrocitaria en el frotis de sangre periférica.

Palabras clave: morfología eritrocitaria * glóbulos rojos * frotis sanguíneo * anemia

Abstract

Despite the availability of modern automated equipment, the study of red cell morphology in peripheral blood smears continues to play a key role in the diagnosis of anemias. In 2005, the International Consensus Group for Hematology Review published a document with uniform criteria recommended action for the selection of blood smears to be analyzed by microscopy. Recently, the International Committee for Standardization in Hematology (ICSH) produced a series of recommendations to unify the nomenclature and graduate abnormal morphological findings in the study of peripheral blood. The aim of our work was to present readers with a review of the topic and the latest recommendations of the expert groups at national and international levels for the study of anemias by evaluating red cell morphology in the peripheral blood smear.

Keywords: red cell morphology * red blood cells * blood smear * anemia

Resumo

Apesar da disponibilidade de equipamentos automatizados modernos, o estudo da morfologia eritrocitária em esfregaços de sangue periférico continua a desempenhar um papel fundamental no diagnóstico das anemias. Em 2005, o Grupo Internacional de Consenso em Revisões Hematológicas publicou um documento com os critérios uniformes de ação recomendados para a seleção dos esfregaços sanguíneos que devem ser analisados através do microscópio. Recentemente, a Comissão Internacional de Padronização em Hematologia (ICSH) produziu uma série de recomendações para unificar a nomenclatura e graduar os achados morfológicos anormais no estudo do sangue periférico. O objetivo deste trabalho foi apresentar aos leitores uma revisão do tema e as últimas recomendações dos grupos de especialistas em nível nacional e internacional para o estudo de anemias através da avaliação da morfologia eritrocitária no esfregaço de sangue periférico.

Palavras-chave: morfologia eritrocitária * glóbulos vermelhos * esfregaço sanguíneo * anemia

Introducción

Gran parte del diagnóstico hematológico está relacionado con la observación e identificación de diferentes tipos celulares. Los métodos automatizados han proporcionado mejoras en la calidad de las mediciones, al disminuir los errores analíticos de los métodos manuales, y en la optimización de los tiempos requeridos para el análisis de las muestras. Sin embargo, estos últimos continúan siendo la base de algunos métodos de referencia y se utilizan con fines de validación de los métodos automatizados (1).

Actualmente, el desarrollo de sofisticados equipamientos automatizados junto con el seguimiento de las directrices del Grupo Internacional de Consenso para la Revisión en Hematología (2), han permitido disminuir la cantidad de frotis sanguíneos que deben examinarse en el trabajo de rutina a solamente un 10-15% (3). Sin embargo, el estudio de la morfología de sangre periférica realizado por personal entrenado desempeña un papel primordial en el diagnóstico hematológico cuando se aplican criterios de revisión en base a los resultados de los analizadores hematológicos. Una de las razones más importantes que justifican este estudio es que contribuye con el diagnóstico diferencial de las anemias (3-5). Los diferentes tipos morfológicos de los hematíes, proporcionan una orientación al tipo de anemia presente (6), aunque muy pocos constituyen por sí solos el criterio diagnóstico, tales como: los drepanocitos en la anemia falciforme, los cristales de Hb C en la hemoglobinopatía homónima y los esquizocitos de vital importancia en el diagnóstico de Microangiopatías trombóticas (7). Las recomendaciones publicadas recientemente por el Comité Internacional de Estandarización en Hematología (ICSH), destacan la importancia y la vigencia del estudio microscópico del frotis sanguíneo, permitiendo armonizar la nomenclatura y graduación de los hallazgos morfológicos en sangre periférica (8). El objetivo de este trabajo fue presentar a

los lectores una revisión del tema y las últimas recomendaciones de los grupos de expertos a nivel nacional e internacional para el estudio de la morfología eritrocitaria en el frotis de sangre periférica.

Consideraciones pre-analíticas

Todo estudio realizado en el laboratorio debe iniciarse con la adecuada preparación del paciente, para lo cual deben proporcionarse las indicaciones precisas previas a la toma de muestra; se recomienda: no orinar dentro de los 30 minutos anteriores a la misma, no ingerir alimentos ni agua dentro de las 2 horas previas no fumar, no realizar actividad física dentro de los 20 minutos previos, evitar el estrés, no ingerir medicación o suplementos dietarios 8 horas antes de la extracción (9) (10). Estos factores influyen en los resultados de las determinaciones analíticas que se realizarán posteriormente, tanto por métodos manuales como automatizados y, por lo tanto, deben controlarse y estandarizarse. La correcta interpretación de los valores hematimétricos depende fuertemente de la metodología empleada en la toma de muestra (11) pero también del estado de salud del paciente y de la preparación pre-analítica. Toda esta información debe ser considerada en las etapas posteriores del análisis bioquímico (12).

Para la realización de un hemograma puede utilizarse sangre obtenida por punción venosa, arterial o capilar, siendo la muestra de elección la obtenida por punción venosa debido a que es la de más fácil obtención. El procedimiento es mínimamente invasivo. Permite la obtención de resultados más reproducibles evitando la contaminación de la muestra con líquidos tisulares, como puede ocurrir en el caso de la obtenida por punción capilar (12-14). Para la realización de la punción se ha estandarizado el calibre de las agujas y dispositivos bioseguros (15) siendo recomendado el uso en adultos de 19 o 21G (1,1 y 0,8 mm, respectivamente) y en niños

23G (0,6 mm) (10). El anticoagulante recomendado para la realización del hemograma es el EDTA.K₂.H₂O a una concentración de 1,5-2,2 mg/mL de sangre (16). Tanto las sales de sodio como las de potasio del EDTA, preservan la sangre permitiendo el análisis diferido de todos los parámetros del hemograma cuando se encuentran en concentraciones menores de 4 mg/mL de sangre. Las diferencias de pH que generan el uso de las diferentes sales de EDTA (K₃, K₂ y Na₃) afectan principalmente el tamaño de los hematíes debido a un efecto osmótico que es contrarrestado con las soluciones hipotónicas que se utilizan en la dilución de las muestras en los autoanalizadores hematológicos. De esta forma, se restablece la morfología a sus formas nativas no existiendo diferencias en el volumen eritrocitario y hematocrito informados en muestras analizadas entre 1 y 4 horas después de su recolección (17).

Para la observación microscópica de frotis sanguíneos es deseable, y así está recomendada, la utilización de la sangre periférica fresca sin anticoagulante (12). Respecto al uso de sangre anticoagulada, sólo debe utilizarse en el caso que no haya sido posible obtener el frotis en el momento de la extracción de la sangre (colocando una gota directamente sobre un portaobjetos), pero debe tenerse en cuenta que se producirán cambios en la morfología y que los mismos son dependientes del tiempo, de la temperatura de conservación y de la naturaleza del anticoagulante utilizado temperatura (11-14) (17) (18). El frotis sanguíneo debe realizarse inmediatamente después de la toma de muestras, pero puede diferirse la realización del mismo hasta un máximo de 6 horas, con sangre anticoagulada con EDTA.K₂ mantenida a temperatura ambiente, tiempo en el que tanto la morfología como los parámetros relacionados con los hematíes se mantienen estables (17). Los principales cambios en la morfología de los glóbulos rojos que pueden observarse en frotis obtenidos a partir de sangre conservada y anticoagulada son la crenación, esferocitoformación y fragmentación de los eritrocitos. Se ha documentado que los glóbulos rojos nucleados desaparecen de los especímenes luego de 1 a 2 días (19). Por otro lado, todos estos cambios pueden retrasarse, pero no evitarse, conservando la sangre a 4 °C. Por esto, la recomendación de ICSH es no demorar más de 3 a 4 horas la realización del extendido sanguíneo (17). En este sentido, es importante destacar que la OMS ha recomendado para la clasificación de Neoplasias Hematológicas que el frotis sea obtenido a partir de sangre fresca y como máximo, sea realizado con sangre conservada antes de las 2 horas de obtenida (20).

Actualmente existen métodos automatizados para la realización del frotis sanguíneo incorporados al autoanalizador hematológico, que resultan de utilidad en laboratorios de alta complejidad dado que evitan la realización del frotis en los puntos de atención del paciente y su transporte al laboratorio. Permiten la selección

automática de las muestras que deben ser estudiadas según los resultados obtenidos, por ejemplo, a partir del valor del hematocrito (11) y en base a los criterios definidos por el laboratorio (2).

Los métodos empleados para teñir las células de la sangre se basan en la utilización de colorantes tipo Romanowsky constituidos, fundamentalmente, por una mezcla de eosinas y derivados de las tiazinas (18). Las variaciones en la calidad de la tinción dependen del tipo y las características del colorante y del método de tinción empleado. Entre los métodos de tinción, los más utilizados son el de Giemsa y el de May-Grünwald-Giemsa. Este último mejora la coloración de los eritrocitos y es el recomendado para programas de evaluación externa de la calidad (21).

Por último, es de vital importancia que los frotis de sangre sean de la más alta calidad, ya que de lo contrario se obtendrá una escasa información o, lo que es más importante, los artificios pueden suministrar información falsa y, en consecuencia, conducir a un diagnóstico equivocado. La extensión de sangre debe tener una longitud de unos 3 cm, no debe ser excesivamente gruesa ni fina, lo que se consigue utilizando material perfectamente limpio, regulando el ángulo del portaobjeto extensor que debe ser de aproximadamente 30°, variando el tamaño de la gota y cambiando la presión y velocidad en la realización del extendido. Además, el frotis debe ser liso y uniforme. La morfología de los glóbulos rojos debe evaluarse en el área del portaobjetos donde la mayor parte de estas células se toquen pero no se superpongan (18).

Consideraciones analíticas

La metodología recomendada para el estudio microscópico del frotis de sangre periférica debe ser realizada en forma sistemática de acuerdo con el siguiente procedimiento (22):

1. Chequeo de los datos del paciente para corroborar con los resultados obtenidos a partir del autoanalizador, especialmente edad y sexo del paciente.
2. Enfoque siempre con el objetivo de menor aumento (10X) para buscar la zona ideal de estudio de las células, analizar la calidad de la coloración y detectar alteraciones macroscópicas como la presencia de parásitos sanguíneos, distribución anormal de los glóbulos, como ocurre en presencia de crioaglutininas, o alteraciones cuantitativas, como por ejemplo, el predominio de algún tipo celular. El área ideal de análisis de la morfología de las células sanguíneas se define como aquella en la cual no existe superposición de los eritrocitos ni tampoco lagunas o zonas carentes de glóbulos.

- Examen microscópico usando los objetivos apropiados y con las condiciones óptimas de iluminación. Se recomienda el uso del objetivo de aumento medio (40X) para el estudio y luego el uso del objetivo de inmersión (100X) para la observación de los detalles más finos como por ejemplo, la presencia de inclusiones eritrocitarias o parásitos.

MORFOLOGÍA ERITROCITARIA EN LA CLASIFICACIÓN DE LAS ANEMIAS

La clasificación general de las anemias se realiza por criterios morfológicos, según el tamaño de los eritrocitos, en microcíticas, normocíticas y macrocíticas si el tamaño de los eritrocitos está disminuido, normal o aumentado, respectivamente. Esta característica puede evaluarse objetivamente por el índice eritrocitario VCM (volumen corpuscular medio) provisto por los autoanalizadores hematológicos y que ha permitido eliminar la subjetividad inherente al observador. Además, las anemias también pueden clasificarse según el contenido de hemoglobina presente en los hematíes, en hipocrómicas, normocrómicas o hiperocrómicas en base al índice eritrocitario HCM (hemoglobina corpuscular media). Adicionalmente, el índice eritrocitario ADE (ancho de distribución eritrocitaria, o en inglés RDW) provisto por analizadores hematológicos y que indica la variación de tamaños eritrocitarios o anisocitosis, junto con el VCM, permite clasificar a las anemias en homogéneas y heterogéneas (6) y constituyen los parámetros eritroides más útiles para la clasificación morfológica de las mismas (23).

Las anemias también se clasifican por criterios fisiopatológicos, según la capacidad eritropoyética de la médula ósea (evidenciada a través del recuento de reticulocitos) en arregenerativas, cuando hay una respuesta reticulocitaria insuficiente al grado de anemia presente o regenerativas, cuando la respuesta reticulocitaria es apropiada. El uso de los índices eritrocitarios junto con el recuento de reticulocitos, proporcionan un algoritmo de estudio de las anemias (6) (22) (24).

Evaluación de la morfología eritrocitaria

El hematíe o eritrocito es el elemento más maduro de la eritropoyesis. En su proceso de diferenciación expulsa el núcleo para especializarse y cumplir con su principal función en la sangre que es el transporte de oxígeno hacia los tejidos. Su morfología está relacionada con la composición del citoesqueleto de la membrana que le confiere un aspecto redondeado u oval de unos 7 micrometros de diámetro en promedio, con una depresión central que ocupa un tercio de su volumen. Si se lo observa transversalmente, tiene forma de disco bicóncavo de unos 2 µm de espesor (25).

La observación de la morfología eritrocitaria en el frotis de sangre tiene una importancia fundamental en la evaluación de los pacientes con anemia y la valoración adecuada sólo puede realizarse en frotis perfectamente extendidos, fijados y coloreados (5).

La revisión del frotis sanguíneo permite algunas veces el diagnóstico definitivo y más frecuentemente provee el diagnóstico diferencial y la indicación de los siguientes estudios complementarios necesarios. Entre las patologías donde la observación de la morfología de los hematíes resulta de mayor utilidad diagnóstica, se pueden mencionar las anemias hemolíticas, las hemoglobinopatías, talasemias y las anemias macrocíticas (3).

Las alteraciones de los eritrocitos pueden corresponder a: a) alteraciones del tamaño (anisocitosis), b) alteraciones de la forma (poiquilocitosis), c) alteraciones de la coloración (anisocromía), d) alteraciones en la distribución y e) presencia de inclusiones eritrocitarias (Tabla I) (Tabla II) (Tabla III).

En las anemias hemolíticas, la morfología de los hematíes es de fundamental importancia para el diagnóstico. La presencia de esferocitos no constituye un diagnóstico específico, pero sí lo es en combinación con la prueba de la antiglobulina directa, en la anemia hemolítica autoinmune. Del mismo modo, la observación de este tipo de formas en combinación con fragmentos de glóbulos rojos, son característicos de la anemia hemolítica microangiopática y tienen gran importancia clínica al indicar hipertensión asociada al embarazo, cán-

Tabla I. Anormalidades en la distribución de los hematíes en el frotis de sangre periférica (Adaptado de Palmer *et al*, 2015).

Hallazgo	Descripción	Patología asociada	Recomendación de ICSH
Aglutinación	Los eritrocitos forman agregados de tamaño variable no pudiendo observarse los límites celulares en forma definida	Presencia de anticuerpos fríos anti-hematíes	Informar cuando esté presente
Formación de <i>rouleaux</i>	Los eritrocitos se apilan por la parte bicóncava (pilas de moneda). A diferencia del anterior, los hematíes conservan su morfología	Alta concentración de proteínas plasmáticas	Informar cuando esté presente

Tabla II. Anormalidad en el tamaño o la coloración de los hematíes en el frotis sanguíneo (Adaptado de Palmer, *et al*, 2015).

Hallazgo	Descripción	Patología asociada	Recomendación de ICSH
Macrocitosis	Glóbulos rojos con aumento en el tamaño promedio ($>8,5 \mu\text{m}$ de diámetro o $\text{VCM}>100 \text{ fL}$). ADE anormal con VCM normal sugiere la presencia de macrocitos. Recién nacidos y neonatos presentan glóbulos rojos de mayor tamaño que en los adultos.	Anemias macrocíticas. Principalmente por deficiencia de vitamina B_{12} o ácido fólico, enfermedad hepática, Síndromes mielodisplásicos, quimioterapia.	Utilizar el VCM para cuantificar el aumento del tamaño de los glóbulos rojos. Graduar por microscopia en laboratorios que no posean autoanalizadores. Graduar por microscopia los macrocitos con ADE anormal ante el VCM normal. Graduar los macro-ovalocitos si están presentes
Microcitosis	Glóbulos rojos de tamaño disminuido con diámetro $<7 \mu\text{m}$ ($\text{VCM}<80 \text{ fL}$) asociados con la concentración de hemoglobina (hipocromía). Al igual que en el caso anterior, debe considerarse la edad del paciente dado que en niños sanos, el VCM es habitualmente menor que en adultos.	Anemias microcíticas, principalmente por deficiencia de hierro, talasemias y hemoglobinopatías, anemia de procesos inflamatorios crónicos, anemias sideroblásticas.	Utilizar el VCM para graduar la disminución del tamaño de los glóbulos rojos. Graduar por microscopia en laboratorios que no poseen autoanalizadores ADE anormal o histograma anormal requieren de la revisión del frotis sanguíneo.
Dismorfismo	Presencia de dos poblaciones de glóbulos rojos que pueden identificarse en el histograma. Relacionado al índice ADE.	Anemias marcadas. Pacientes que recibieron una transfusión sanguínea.	Reportar la presencia de dismorfismo y describir las dos poblaciones.
Hipocromía	Es la reducción en la coloración de los hematíes con aumento en el área central, que resulta mayor a un tercio del diámetro del hematíe. Relacionado al índice HCM.	Anemia ferropénica, anomalías en la utilización de hierro o alteraciones de la síntesis de protoporfirina o de la globina.	Utilizar la HCM para establecer la severidad de la hipocromía por microscopia. En laboratorios que prefieren utilizar la inspección visual directa.
Policromasia	Indica presencia de glóbulos rojos inmaduros con restos de ARN ribosomal. Poseen un tamaño mayor que el de los glóbulos rojos maduros normales y se tiñen de color gris azulado.	Reticulocitosis.	Graduar la policromasia y realizar el recuento de reticulocitos si fuera necesario.

La desigualdad del tamaño de los eritrocitos se denomina anisocitosis y está relacionada al índice ADE (RDW). La cantidad desigual de hemoglobina en los eritrocitos se denomina anisocromía y constituye un signo dismórfico importante.

cer diseminado, coagulación intravascular diseminada (CID), síndrome urémico hemolítico (SUH) o púrpura trombocitopénica trombótica (PTT). Debido a la extrema gravedad de estos cuadros clínicos, el ICSH elaboró una serie de recomendaciones para la identificación morfológica de esquistocitos y recomienda su cuantificación estableciendo como criterio diagnóstico de anemia hemolítica microangiopática cuando el porcentaje de esquistocitos es mayor del 1% de los hematíes observados (17). En Argentina se tiene la mayor incidencia de SUH del mundo en niños menores a 5 años de edad (26), por lo tanto, la identificación de esquistocitos y microesferocitos en este tipo de individuos debe ser considerada y tratada con la máxima urgencia.

En las hemoglobinopatías y talasemias, el frotis sanguíneo tiene su mayor utilidad en la observación de drepanocitos para el diagnóstico de la anemia falciforme y de los cristales de hemoglobina C, que originan células irregulares. Estas morfologías son tan características que resultan de gran valor cuando se requiere un urgente

diagnóstico y el resultado de la electroforesis de hemoglobina o HPLC no está inmediatamente disponible (3).

En las anemias macrocíticas la observación de la morfología eritrocitaria también tiene gran importancia. Las deficiencias vitamínicas que originan las anemias megaloblásticas provocan hematíes de mayor tamaño que en el resto de las anemias macrocíticas y pueden observarse en modo característico macro-ovalocitos y neutrófilos polisegmentados con más de 5 segmentos nucleares llamados pleocariocitos (4).

Las inclusiones eritrocitarias visibles con tinción panóptica más frecuentemente observables y las condiciones clínicas asociadas a su presencia corresponden a:

- Punteado basófilo: intoxicación con plomo, hemoglobinopatías y talasemia, síntesis anormal del hemo. Lo constituyen agregados anormales de ribosomas.
- Cuerpos de Howell-Jolly: hipoesplenismo, postesplenectomía, anemia hemolítica, anemia megaloblástica. Son fragmentos del material nuclear remanente.

Tabla III. Anormalidad en la morfología de los hematíes en el frotis sanguíneo. (Adaptado de Palmer, *et al*, 2015).

Hallazgo	Descripción o significado	Patología asociada	Recomendación de ICSH
Esquistocito o Esquizocito	Hematíe fragmentado o Esquizocito: < 0,5% de todos los hematíes.	Se observan con frecuencia en anemia hemolítica microangiopática como en síndrome urémico hemolítico y PTT, enfermedad renal, quemaduras graves, prótesis valvulares, hemoglobinuria de la marcha.	Cuantificar
Dacriocito	Célula en forma de lágrima, raqueta o pera.	Mielofibrosis, anemia megaloblástica, invasión neoplásica medular. Reacción leucoeritroblástica.	Graduar
Esferocito	Célula redondeada e intensamente coloreada sin aclaramiento central	Anemias hemolíticas inmunes, esferocitosis hereditaria, pos transfusión.	Graduar
Microesferocitos	Células hipercrómicas y de tamaño reducido	Anemia hemolítica esferocítica, anemias microangiopáticas, quemaduras severas.	Graduar
Acantocitos	Célula en forma de estrella: Poseen de cinco a diez proyecciones citoplasmáticas o espículas de variable longitud, grosor y forma.	Enfermedad hepática, deficiencia de vitamina E, post-esplenectomía, α -beta-lipoproteinemia congénita, fenotipo Mc Leod.	Graduar
Excentrocito o blister cell	Polarización de la hemoglobina en una parte del eritrocito.	Hemólisis oxidativa, deficiencia de G6PD.	Graduar
Ovalocito	Célula de forma oval o en forma de huevo.	Síndromes talasémicos, deficiencia de vitamina B ₁₂ o ácido fólico, síndromes mielodisplásicos	Graduar
Eliptocito	Célula en forma de cigarro o lápiz.	Eliptocitosis hereditaria, ferropenia, mielofibrosis.	Graduar
Dianocito	Célula en forma de blanco de tiro	Enfermedad hepática, hemoglobinopatías, talasemia.	Graduar
Drepanocito	Hematíe en forma de hoz	Anemia drepanocítica o falsiforme, hemoglobinopatía C-Harlem y en la hemoglobina Memphis-S.	Graduar
Estomatocitos	Célula con una hendidura en forma de boca	Anemia hemolítica, estomatocitosis hereditaria, hepatopatías.	Graduar
Crenocito	También llamado equinocito, son células que poseen entre 10 y 30 espículas irregularmente distribuidas en la superficie	Enfermedad hepática y renal, deficiencia de piruvato-quinasa. También puede encontrarse como artefacto en preparados obtenidos de sangre almacenada.	Graduar
Queratocito o <i>Bite cell</i>	Células en forma de casco: Poseen dos proyecciones en forma de espículas	Enfermos urémicos o neoplásicos, anemias hemolíticas microangiopáticas, deficiencia de G6PD. Células defectuosas por la remoción de cuerpos de Heinz en el bazo.	Graduar

La desigualdad de la forma de los eritrocitos se denomina *poiquilocitosis*.

- Anillos de Cabot: En trastorno profundo de la eritropoyesis y suelen acompañarse de la observación de cuerpos de Howell-Jolly. Son restos del huso mitótico.
- Cuerpos de Pappenheimer (Gránulos de hemosiderina o agregados de ferritina de color azul-negruzco): anemia sideroblástica, hemoglobinopatías, hipoesplenismo. Pueden observarse con tinciones de May Grünwald-Giemsa como inclusiones basofílicas de diversos tamaños y formas. También pueden visualizarse con la tinción de Perls (azul de Prusia).

La observación de este tipo de inclusiones debe interpretarse como manifestación de eritropoyesis ineficaz.

Consideraciones post-analíticas

La graduación de las alteraciones morfológicas de los eritrocitos y la realización del informe son esenciales ya que pueden servir como una valiosa ayuda en el diagnóstico de una variedad de trastornos. Pero, la falta de un sistema de clasificación uniforme puede conducir a resultados inconsistentes y confusos. El sistema de clasificación y el nivel de calificación varían desde un formato con tres niveles a otro formato con cuatro niveles de graduación, en algunos casos informados con términos descriptivos y en otros con números (+1 a +4). Por ello, Constantino (27) hace hincapié en que el mantenimiento de la coherencia dentro de un sistema elegido

es una buena práctica de laboratorio y también es recomendado por los servicios de acreditación de laboratorios. En este sentido, su guía de graduación propuesta consiste de un formato de dos sistemas (descriptivo y numérico) y tres graduaciones: leve o 1+; moderado o 2+ y marcado o 3+. Así también, se debe informar si están presentes el fenómeno de aglutinación, *rouleaux*, doble población eritrocitaria (y describirlas) o inclusiones intraeritrocitarias. La recomendación de ICSH es establecer el grado de las diferentes formas de hemáties presentes (poiquilocitosis), para lo cual, Palmer *et al.* (17) han elaborado una tabla que permite unificar los hallazgos morfológicos y de este modo, brindar una mayor información de utilidad clínica.

Conclusiones

La evaluación de la información clínica y la evaluación sistemática del extendido de sangre periférica (4) con el análisis de los índices eritrocitarios constituyen el punto de partida en la investigación de cualquier tipo de anemia cuya causa no ha sido explicada (3). La información obtenida a partir del uso de los autoanalizadores hematológicos debe analizarse en forma conjunta con la observación sistemática del frotis de sangre periférica y debe utilizarse para validar los resultados hematimétricos (18).

Con el desarrollo de métodos automatizados de reconocimiento morfológico a través del análisis de imágenes de frotis sanguíneos, se reafirma su valor diagnóstico. Esta tecnología permitiría archivar en imágenes digitales de frotis anormales que proveen evidencia de las decisiones clínicas realizadas y también la obtención de una consulta para una segunda opinión por una vía moderna de comunicación (3).

El estudio del frotis de sangre periférica resulta imprescindible en el estudio de las anemias hemolíticas donde la observación de la morfología eritrocitaria posee valor diagnóstico. También es de destacar su importancia en el diagnóstico de las anemias macrocíticas y microcíticas (3).

El ICSH destaca la importancia y la necesidad de un consenso en la uniformidad de criterios a nivel mundial en el informe de los hallazgos de la morfología hematológica y la graduación de los mismos (7) (17). Con el objeto de estandarizar el informe del hemograma, el ICSH recomendó el informe cualitativo de las anomalías en los glóbulos rojos, sin embargo, recomienda el recuento de los esquistocitos debido a que tienen valor diagnóstico y en el seguimiento de las microangiopatías trombóticas (7) (8).

Por la experiencia en ámbitos académicos y la participación en programas de Evaluación Externa de la Calidad como IEQAS y el PEEC-Hematología, los autores del presente trabajo han podido comprobar la falta de uniformidad de criterios de los informes de resultados y

por ello surgió la necesidad de difundir las importantes recomendaciones objeto del presente trabajo para los laboratorios de nuestro medio. Debido a la mejora de la tecnología de los autoanalizadores hematológicos, la estandarización en el informe de la morfología eritrocitaria será cada vez más necesaria y evitará inconsistencias en el diagnóstico entre diferentes laboratorios (17).

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Nilda E. Fink por su estímulo constante y generosidad. Al Dr. Juan Miguel Castagnino por su invitación y su ejemplo.

A las Dras. Lynn Palmer y Gina Zini por su gentil permiso.

A la Dra. Patricia Geschman por su revisión en la traducción al portugués.

CORRESPONDENCIA

Dr. FERNANDO D. VENTIMIGLIA

Cátedra de Hematología

Facultad de Ciencias Exactas-Universidad Nacional de La Plata
Calle 47 y 115

1900 CIUDAD DE LA PLATA. Prov. de Buenos Aires. Argentina

E-mail: fventimiglia@biol.unlp.edu.ar

Referencias bibliográficas

1. Fink NE. Automatización en Hematología. Hematología 2005; 9(1): 4-16.
2. Barnes PW, Mc Fadden 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(2): 83-90.
3. Bain BJ. Diagnosis from the blood smear. N Engl J Med 2005; 353: 498-507.
4. Bain BJ. Blood cell morphology in health and disease. En: Dacie and Lewis. Practical Haematology. 11ª Edición. Capítulo 5 (p.69-100) Londres: Churchill Livignston; 2011.
5. Freund M. Hematología. Guía práctica para el diagnóstico microscópico. 11ª Edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2014.
6. Orsilles MA. Hemograma automatizado. Parte I: Eritrocitos. Córdoba: Editorial de la Universidad Católica de Córdoba; 2011.
7. Zini G, D'Onofrio G, Briggs C, Erber W, Jou JM, Lee SH, *et al.* ICSH recommendations for identification, diagnostic value, and quantitation of schistocytes. Int J Lab Hem 2012; 34: 107-16.
8. Palmer L, Briggs C, McFadden S, Zini G, Burthem J, Rozenberg G, *et al.* ICSH recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphological features. Int Jnl Lab Hem 2015; 37, 287-303.
9. ICSH. The theory of reference values. Clin Lab Haematol 1981; 3: 369-73.

10. Jury C, Negal Y, Tatsumi N. Collection and handling of blood. En: Dacie-Lewis. Practical Hematology 11th ed. London: Elsevier. Chapter 1: 1-9, 2011.
11. Vives-Corrons JLL. La sangre: características generales. Métodos de extracción sanguínea y empleo de anticoagulantes. En: Manual de técnicas de laboratorio en hematología. Cap. 1 (1-28). 3ª Ed., Barcelona: Elsevier-Masson; 2006.
12. Committee for Standardization in Haematology (ICSH). Standardization of blood specimen collection procedure for reference values. Clin Lab Haematol 1982; 4: 83-6.
13. CLSI. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. Approved standard. 6th ed. Documento H3-A6. Wayne PA: CLSI; 2007.
14. Tatsumi N, Miwa S, Lewis SM. International Council for Standardization in Hematology/ International Society of Hematology. Specimen collection, storage, and transport to the laboratory for hematological test. Int J Hematol 2002; 75:261-8.
15. International Organization for Standardization (ISO). Sterile hypodermic needles for single use. ISO 7864: 2016.
16. International Council for Standardization in Haematology (ICSH) (1993). Recommendations of ICSH for ethylenediamine-tetraacetic acid anticoagulation of blood for blood cell counting and sizing. Am J Clin Pathol 1993; 100: 371-2.
17. Zini G. Stability of complete blood count parameters with storage: toward defined specifications for different diagnostic applications. International Council for Standardization in Hematology (ICSH). Int J Lab Hem 2014; 36: 111-3.
18. Bain BJ, Lewis SM. Preparation and staining methods for blood and bone marrow films. En: Dacie and Lewis. Practical Haematology. 11ª edición. Capítulo 4 (p.57-68) Londres: Churchill Livingstone; 2011.
19. Baer DM, Krause RB. Spurious laboratory values resulting from stimulated mailing conditions. A study of time and temperature variables. Tech Bll Regist Med Technol 1968; 38: 137-45.
20. Brunning RD, Orazi A, Germing U, Le Beau MM, Porwit A, Baumann I, *et al.* In: WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Swerdlow EH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW (eds). Lyon: WHO; 2008: 88-93.
21. Vives Corrons JL, Albareda S, Flandrin G, Heller S, Horvath K, Hawwen B, *et al.* Guidelines for blood smear preparation and staining procedure for setting up an external quality assessment scheme for blood smear interpretation. Part I: Control material. Clin Chem Lab Med 2004; 42: 922-6.
22. Bain BJ. Morphology of blood cells. En: Bain BJ. Blood cells. A practical guide. 4ª Edición. Londres: Blackwell Publishing; 2006.
23. Casella A, Jelen AM, Canalejo K, Aixalá M. Valores de referencia de la serie eritroide con tecnología del siglo XXI en embarazadas. Prevalencia de anemia. Acta Bioquim Clin Latinoam 2007; 411: 47-50.
24. Guías de diagnóstico y tratamiento. Sociedad Argentina de Hematología. Edición 2015. Disponible en <http://www.sah.org.ar> [Fecha de acceso 1º de abril de 2016].
25. Florensa L, Woessner S. Hematopoyesis: morfología de los elementos formes de la sangre y órganos hematopoyéticos. En: Hematología clínica. Sans-Sabrafén J, Bes-ses Raebel C, Vives Corrons JL. 5ta. Edición. Madrid: Elsevier; 2006.
26. Antman J, Geffner L, Pianciola L, Rivas M. Informe especial: Síndrome urémico hemolítico (SUH) en Argentina, 2010-2013. Extracto del Boletín Integrado de Vigilancia N° 222. Ministerio de Salud de la Nación de la República Argentina. Agosto 2014.
27. Constantino BT. Reporting and grading of abnormal red blood cells morphology. Int J Lab Hematol 2014; 37: 1-7.

Recibido: 28 de septiembre de 2016

Aceptado: 20 de julio de 2017