	MANUAL DE PROCEDIMIENTO EN HEMATOLOGIA	Página: 1 de 7
	CODIGO: APD-LC-M-1	Ver. 1
Elaboró: Lorena Rizo. Líder Apoyo Diagnostico	Revisó: Daniel Valderrama García Responsable Mejoramiento continuo	Aprobó: Acta No.
Fecha Elaboración: Noviembre de 2017	Fecha de Revisión: Diciembre de 2017	Fecha Aprobación: Enero de 2018

1. OBJETIVO

El objetivo de este manual, es describir las actividades, para uniformizar los procedimientos hematológicos que se realizan en el LABORATORIO E.S.E HOSPITAL LOCAL DE PIEDECUESTA.


2. ALCANCE.

Las actividades descritas dentro de este manual aplican para las siguientes determinaciones:

- Cuadro hemático.
- Recuento manual de plaquetas.
- Velocidad de sedimentación globular.
- Hemoclasificación.
- Pruebas de coagulación.
- Pruebas de coombs.

3. RESPONSABLES.

Bacteriólogos y Auxiliares de laboratorio clínico.

	MANUAL DE PROCEDIMIENTO EN HEMATOLOGIA	Página: 2 de 7
	CODIGO: APD-LC-M-1	Ver. 1

4. SECCION PRIMERA: CUADRO HEMÁTICO.


El cuadro hemático completo es uno de los exámenes más solicitados en los diferentes servicios al laboratorio clínico y se constituye en una herramienta fundamental del médico para el tratamiento de la enfermedad del paciente. A continuación se describe el procedimiento para su realización de manera automatizada a través del equipo Lumiratek H3.

1. MATERIALES.

- Muestra de sangre total con anticoagulante EDTA la cual es estable a temperatura ambiente entre 18-25°C por 4 horas o por 12 horas, conservándose en refrigeración a 4°C .
- Frotis de sangre coloreado.
- Aceite de inmersión.
- Guantes desechables.
- Equipo automatizado de hematología Lumiratek H3.
- Microscopio con objetivo 40x y 100x.
- Agitador para tubos.
- Contador diferencial manual.
- Toallas desechables.
- Palillos de madera.

2. PROCEDIMIENTO.

- Son aceptadas las muestras provenientes del proceso de recepción y toma de muestras, según los criterios establecidos en el respectivo manual.
- los tubos son colocados en el agitador.
- Son incluidos en el equipo de hematología los siguientes datos: identificación de la muestra, Doctor, Identificación del usuario, apellidos y nombres, edad y sexo.
- Destapar el tubo y eliminar las burbujas que aparezcan ayudados de un palillo de madera.
- Colocar el tubo en el porta-tubos indicado e iniciar el análisis.

	MANUAL DE PROCEDIMIENTO EN HEMATOLOGIA	Página: 3 de 7
	CODIGO: APD-LC-M-1	Ver. 1

- Proceder al análisis de la muestra en el equipo, según las indicaciones en el manual del usuario del equipo de hematología.
- Imprimir el resultado y anotar los siguientes datos en las hojas diarias de trabajo: recuento de glóbulos blancos, hematocrito, hemoglobina, y recuento diferencial. Si en la orden de laboratorio hay la solicitud de recuento de plaquetas, anexar este dato.
- En el caso que el recuento de plaquetas sea inferior a $100.000 \times \text{mm}^3$ es coloreado el extendido de sangre periférica correspondiente, con colorante de wright y se procede a realizar el recuento de plaquetas “manual”, según lo descrito en la sección segunda de este manual.
- Para las solicitudes de hematocrito, hemoglobina y recuento de plaquetas, procesar la muestra según las indicaciones anteriores. El resultado que arroja el equipo, no es impreso. En el formato adecuado se reportan.
- **Nota:** las actividades concernientes al funcionamiento del equipo de química, están detalladas en la guía del usuario respectiva.

5. SECCION SEGUNDA: RECUENTO MANUAL DE PLAQUETAS.


Este resultado es importante ya que las plaquetas desempeñan un papel vital en la hemostasia.

En la actualidad es el método que más se utiliza, hay que se ha demostrado un porcentaje de variación menor comparado con las técnicas anteriores, aunque el método ideal para el recuento de plaquetas es el automatizado.

La finalidad de este análisis consiste en evaluar el número de plaquetas presentes en la sangre, a través de la observación de un frotis coloreado con wright, con el fin de compararlo con el conteo directo, producto del análisis realizado por el equipo semiautomatizado de hematología.

1. PROCEDIMIENTO:

- Colocar la lámina coloreada en la platina del microscopio.
- Observar con el objetivo 40x, con el fin de elegir la zona ideal dentro del Frotis para realizar el conteo (los campos deben contener aproximadamente 100 glóbulos rojos, los cuales no deben estar superpuestos e idealmente que solo se rocen entre ellos).
- Colocar una gota de aceite de inmersión en la lámina coloreada.
- Observar con el objetivo 100x.

	MANUAL DE PROCEDIMIENTO EN HEMATOLOGIA	Página: 4 de 7
	CODIGO: APD-LC-M-1	Ver. 1

- Contar las plaquetas en 10 campos situados entre el cuerpo y la cola del frotis ayudados del contador de células.
- Sacar el promedio del recuento en los 10 campos y multiplicar por 21.000.
- Reportar este resultado en la parte inferior del formato para cuadro hemático, de la siguiente manera:
Recuento manual de plaquetas: x mm³.

2. INCIDENTES EN EL ANALISIS DE CUADRO HEMATICO Y PLAQUETAS:

- Muestra coagulada
- Volumen inadecuado según lo especificado en el manual de toma de muestras.
- Presentación frecuente de Extendidos de Sangre Periférica defectuoso: muy grueso o delgado.
- Presentación frecuente de defectos en la coloración: muy azul o rosada.

6. SECCION TERCERA: VELOCIDAD DE SEDIMENTACION GLOBULAR.


La diferencia de gravedad específica entre eritrocitos y plasma ocasiona la precipitación de los primeros en el fondo del tubo que contiene sangre anti coagulada con una velocidad que es medida en determinada cantidad de tiempo. La velocidad de sedimentación de los eritrocitos se debe a modificaciones de su carga superficial que provoca la agregación. Esta agregación se hace en forma de pilas de monedas (roleaux) y depende de la cantidad de fibrinógeno y de las globulinas del plasma.

La eritrosedimentación es una prueba que detecta reactantes de fase aguda: Desde el punto de vista clínico es muy inespecífica. Se encuentra elevada en infecciones, enfermedades inflamatorias, autoinmunes y malignas, especialmente las discrasias de células plasmáticas. La eritrosedimentación es particularmente útil en las enfermedades reumatológicas, especialmente en artritis reumatoidea, en la evaluación de artritis temporal y en la polimialgia reumática, pueden haber variaciones fisiológicas que se deben tener en cuenta ya que la VSG se puede acelerar en caso de niños y ancianos, en la mujer se aumenta antes y después de la menstruación, durante el embarazo y puede estar elevada uno o dos meses después del parto, la toma de anticonceptivos orales puede también acelerar la velocidad.

1. PROCEDIMIENTO:

- Mezclar la muestra de sangre en el agitador de tubos.
- Llenar las $\frac{3}{4}$ partes de un tubo capilar para hematocrito, cuidando que no se formen burbujas.

La última versión de cada documento será la única válida para su utilización y estará disponible en el Portal Interno de la E.S.E. Hospital Local de Piedecuesta, evite mantener copias digitales o impresas de este documento porque corre el riesgo de tener una versión desactualizada.

	MANUAL DE PROCEDIMIENTO EN HEMATOLOGIA	Página: 5 de 7
	CODIGO: APD-LC-M-1	Ver. 1


- Cubrir un extremo del capilar con plastilina proveniente del soporte para hematocritos.
- Colocar en el soporte , en posición perfectamente vertical y contabilizar con el reloj marcador media hora y leer resultados e inmediatamente, contabilizar media hora más, hasta completar 1 hora y leer los resultados
- La lectura de resultados, se realiza colocando el capilar frente a la tabla de referencia para hematocritos, midiendo la distancia que hay entre el punto más bajo del menisco de la superficie y el límite superior del sedimento de glóbulos rojos. Los milímetros leídos corresponden a la velocidad de sedimentación por fracción de hora.

SECCION CUARTA: HEMOCLASIFICACION.

En todas las mujeres embarazadas se debe determinar el tipo de sangre para evitar una posible eritroblastosis fetal. Igualmente es importante conocer la clasificación sanguínea tanto del donante como del receptor a la hora de la transfusión, aunque no garantiza que no se produzca una reacción de anafilaxis. Una lectura de aglutinación positiva significa que hubo una reacción antígeno/anticuerpo, por lo tanto, está presente el antígeno. El factor Rh obedece a la presencia de antígeno D. la presencia o ausencia de este antígeno D en la membrana celular del eritrocito se determina por aglutinación visible haciendo reaccionar las células con suero anti-D. Si las células se aglutinan, significa que presenta dicho antígeno y se considera positivo para el factor Rh.

1. PROCEDIMIENTO:

- Mezclar la muestra de sangre en el agitador de tubos.
- Extraer del refrigerador los hemoclasificadores, permitiendo que tomen la temperatura ambiente.
- Dispensar sobre una lámina de acrílico blanco tres gotas de sangre bien mezclada, lo suficientemente separadas, como para permitir la mezcla con el reactivo, evitando que se unan entre ellas.
- Colocar en estricto orden contiguo a la muestra los hemoclasificadores así:
 - Antisuero A
 - Antisuero B
 - Antisuero D.
- Mezclar cada sitio de reacción con un palillo de madera.
- Tomar la lámina de acrílico, agitándola suavemente, para observar la aparición o no de aglutinación.
- Informar los resultados en el formato adecuado así:
 - Grupo A: si aglutina con el antisuero A.

	MANUAL DE PROCEDIMIENTO EN HEMATOLOGIA	Página: 6 de 7
	CODIGO: APD-LC-M-1	Ver. 1

- Grupo B: si aglutina con el antisuero B.
 - Grupo O: si no aglutina con los antisueros A y B.
 - Grupo AB: si aglutina con los antisueros A y B.
 - Rh positivo: si aglutina con el antisuero D
 - Rh negativo: si no aglutina con el antisuero D.
- En el caso de presentarse una reacción negativa con el antisuero D, determinar si hay presencia o ausencia de cualquiera de los otros antígenos del sistema Rh, adicionando a la muestra reactivo potencializador. Observar la formación de aglutinación e informar.

SECCION QUINTA: PRUEBAS DE COAGULACION.


1. TIEMPO DE PROTROMBINA (PT):

Es un proceso de coagulación en condiciones especiales en el cual a la sangre hecha incoagulable por la adición de citrato, se recalifica y se le añade un exceso de tromboplastina tisular, por lo que la coagulación observada posteriormente depende de la presencia de los activadores representados en los factores I, IV, V, VII y X (vía extrínseca de la coagulación).

Esta prueba puede utilizarse también, para controlar una terapéutica anticoagulante en pacientes que reciben warfarínicos.

PROCEDIMIENTO:

- Se centrifuga la sangre tomada en tubo tapa azul con citrato de sodio, a 2500 rpm durante 10 minutos.
- Se toma el plasma y se incuba 2 a 3 minutos y no debe dejarse en el baño maría más de cinco minutos.
- El reactivo (simplastin alicuotado en volúmenes de 100 micro litros), se extrae del congelador, permitiendo que alcance la temperatura ambiente, luego se coloca en el baño maría durante no más de 1 minuto.
- Se pipetea 100 micro litros de plasma al tubo que contiene el reactivo y simultáneamente se pone en marcha el cronometro.

	MANUAL DE PROCEDIMIENTO EN HEMATOLOGIA	Página: 7 de 7
	CODIGO: APD-LC-M-1	Ver. 1

- Se mezcla el contenido del tubo, extrayéndolo del baño maría, secando la parte exterior y se agita suavemente de adelante hacia atrás, hasta que se forme el coagulo, momento en el cual se detiene el cronometro.

VALORES DE REFERENCIA:

10-14 Segundos.

2. TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ACTIVADO (PTT):

Esta prueba mide la actividad de la coagulación en la vía intrínseca. Sirve para el control de pacientes tratados con heparina y para detectar la presencia de inhibidores adquiridos. En la sangre, el calcio es enlazado por el anticoagulante, lo que impide la coagulación. Después de la centrifugación del plasma este contiene todos los factores intrínsecos de la coagulación, excepto el calcio y plaquetas. Se añade al plasma un sustituto fosfolipídico de las plaquetas y calcio. El resultado del tiempo de tromboplastina parcial activado es el tiempo que tarda en coagular dicho plasma.

PROCEDIMIENTO:

- Se centrifuga la sangre tomada en tubo tapa azul con citrato de sodio, a 2500 rpm durante 10 minutos.
- Incubar a 37°C, 100 micro litros de cloruro de calcio.
- En el tubo que contiene reactivo de PTT (alicutado en volúmenes de 100 micro litros, el cual debe extraerse del congelador permitiendo que tome temperatura ambiente), pipetear 100 micro litros de plasma y conservar en baño maría.
- A los cinco minutos agregar 100 micro litros del cloruro de calcio precalentado y simultáneamente poner el cronometro en marcha.
- Mezclar, esperando 20 segundos y determinar el tiempo de coagulación.

VALORES DE REFERENCIA:

27-39 Segundos.