

201. 472

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGIA



**TESIS DONADA POR
D. G. B. - UNAM**

**IMPORTANCIA DE LA HEMATOLOGIA
Y SU APLICACION CLINICA**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :
CIRUJANO DENTISTA**

**P R E S E N T A :
MINERVA JIMENEZ SILVA**

MEXICO D. F.

1980



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**IMPORTANCIA DE LA HEMATOLOGIA
Y SU APLICACION CLINICA.**

INTRODUCCION.

CAPITULO I SECCION DE HEMATOLOGIA

A.- MATERIAL

CAPITULO II. REACTIVOS

A.- ANTICOAGULANTE DE WINTROBE (BIOMETRIA HEMATICA)

B.- LIQUIDO DE DILUCCION PARA EL RECUESTO DE LEUCOCITOS (LIQUIDO DE TUMK).

C.- SOLUCION DE HAYEM

D.- DILUYENTE DE DRANKIN (MET. DE LA CIANOMETAHEMOGLOBINA)

E.- COLORANTES DE LEISHMAN

F.- SOLUCION AZUL DE CRESIL BRILLANTE AL 1% PARA RETICULOCITOS.

G.- SOLUCION AMORTIGUADORA DE FOSFATOS PH 6.9

H.- SOLUCION MADRE DE GIENSA

CAPITULO III METODOS

A.- GRUPO SANGUINEO Y RH

B.- PRUEBA DE COOMBS

C.- METODO INDIRECTO.

CAPITULO IV RECUESTO DE ERITROCITOS

A.- DETERMINACION DE LA VELOCIDAD DE SEDIMENTACION DE LOS HEMATIES

B.- DETERMINACION DEL HEMATOCRITO.

C.- DETERMINACION DE LA HEMOGLOBINA

D.- DETERMINACION DEL VOLUMEN GLOBULAR MEDIO

E.- DETERMINACION DE LA HEMOGLOBINA GLOBULAR MEDIA

F.- DETERMINACION DE LA CONCENTRACION GLOBULAR MEDIA DE HEMOGLOBINA

CAPITULO V RECUESTO DE LEUCOCITOS

A.- PREPARACION Y TINCION DE ESTENCIONES DE SANGRE

B.- LECTURA DE LA FORMULA LEUCOCITARIA

CAPITULO VI RECUENTO DE PLAQUETAS

CAPITULO VII CELULAS L. E.

**CAPITULO VIII INVESTIGACION DE PARASITOS SANGUINEOS
(PALUDISMO)**

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFIA.

I N T R O D U C C I O N .

Este modesto trabajo quiere manifestar una de las inquietudes que durante el tiempo de mis estudios centraron mi atención .

"HEMATOLOGIA" ya que me permite introducir en el conocimiento de uno de los aspectos clínicos que actualmente revisten mucha importancia, ya que como veremos más adelante, ha tenido un gran incremento en el medio en que nos desarrollamos.

He tratado de dar una imagen general de un sólo as pecto de la Hematología, que es muy complicada y extensa, pero que es de suma importancia para el Cirujano Dentista sobre todo para dar una imagen de lo que es nuestra profe sión , ya que la Odontología es la más noble y artística de las profesiones.

Con el deseo de que sea de utilidad el presente es tudio a nuevas generaciones, paso a desarrollar el tema.

CAPITULO I

M A T E R I A L

HEMATOLOGIA.

MATERIAL NECESARIO:

- I.- 3 MICROSCOPIOS... CARL. ZEISS (GERMANY).
- II.- 1 FOTOCOLORINETRO... LEITZ.
- III.- 1 CENTRIFUGA DE 1 CABEZAL CON 8 CANASTILLAS.
I.E.C. INTERNACIONAL.
- IV.- 3 AGITADORES MECANICOS DE PIPETAS CUENTA GLOBULOS.
- V.- 3 GRADILLAS PARA SEDIMENTACION.
- VI.- PIPETAS DE HEMOGLOBINA. (SAHLI 0.020 microlitros)
- VII.- PIPETAS CUENTA GLOBULOS PARA LEUCOCITOS.
- VIII.- PIPETAS CUENTA GLOBULOS PARA ERITROCITOS.
- IX.- HEMATOCRITOS.
- X.- HEMATIMETROS.
- XI.- LAMINILLAS.

CAPITULO II

REACTIVOS.

A.- ANTICOAGULANTE DE WINTROBE. (BIOMETRIA HEMATICA)

Oxalato amónico 1.2 g.
Oxalato potásico 0.8 g.
Agua destilada 100 cm³.

Se toman 0.5 cm³, de ésta solución en cada tubo de ensaye y se evaporan a sequedad, cuidando que la temperatura no sea mayor de 80°C., para evitar la crepitación y la transformación del oxalato a carbonato, 0.5 cm³ de éste anticoagulante es suficiente para 5 cm³. de sangre.

B.- LIQUIDO DE DILUCION PARA EL RECUESTO DE LEUCOCITOS (LIQUIDO DE TURK).

Acido acético 3 cm³.
Agua destilada 97 cm³.

Se le adicionan unas gotas de solución acuosa de azul de metileno para que los leucocitos se observen mejor y también para darle la coloración a la solución y diferenciarlo de la solución de Hayem.

Esta solución de Turk tiene las siguientes características:

Es un líquido que produce la lisis completa de los hematíes, y es inocua a los leucocitos.

Debe filtrarse frecuentemente para eliminar levaduras, hongos y otros cuerpos extraños.

C.- SOLUCION DE HAYEM.

Agua destilada200 cm³.
Cloruro sódico O.P. 1 g.
Sulfato Sódico (cristalizado) ... 5 g.
Cloruro Mercurico0.5 g.

Se tinte con fucsina fenidada hasta color rosado para diferenciar lo de la solución de Turk.

También puede utilizarse solución salina al 0.85% la solución debe ser clara y cristalina y en caso necesario se filtra para que quede libre de sedimento.

D.- DILUYENTE DE DRABKIN (MET. DE LA CIANOMETAHEMOGLOBINA).

Ferricianuro de Potasio 200 mg.
Cianuro de potasio 50 mg.
bicarbonato de Sodio 1 g.

Se disuelve en un matras volumétrico de 1000 cm³, y se agrega con agua destilada. Se debe conservar en frasco de color ámbar ó en la obscuridad.

E.- COLOKANTE DE LEISHMAN.

Felvo de leishman 0.2 g.
Alcohol metílico100 cm³.
Se prepara tres semanas antes de su uso.

F. SOLUCION AZUL DE CRESIL BRILLANTE AL 1% PARA RETICULOCITOS.

Azul de cresil brillante 1 g.
Solución Salina 100 cm³.

G.- SOLUCION AMORTIGUADORA DE FOSFATOS PH 6.9

Para hacer la dilución del Giemsa.

H.- SOLUCION MADRE DE GIEMSA.

Poivo de Giemsa 0.75 g.

Alcohol metílico 75 ml.

Disolver en 25 ml. de glicerina a 60°C. en baño maría.

CAPITULO III
M E T O D O S .

A.- GRUPO SANGUINEO Y FACTOR RH.

Método del Porta Objetos.- Usamos una laminilla porta-objetos especial , en ella se colocan tres gotas de sangre separadamente ; la primera es para determinar el factor Rh. Se le agrega una gota de suero anti-Rh.(anti-D), a la segunda se le agrega suero anti-B y a la tercera suero anti-A, se mezcla haciendo oscilar suavemente la laminilla porta-objetos. Inclinando o haciendo oscilar la laminilla de vez en cuando para asegurar una mezcla perfecta. Si al cabo de cinco minutos se presenta una clara aglutinación se lee y se da el resultado.

Las lecturas se hacen del modo siguiente:

- 1.- No aglutinan con ninguno de los sueros Anti-A y Anti-B = grupo "O" .
- 2.- Aglutina con suero anti-A pero no con anti-B= grupo "A"
- 3.- Aglutina con suero anti-B pero no con anti-A= grupo "B"
- 4.- Aglutina con ambos sueros = grupo "A B" .

Para el factor Rh si hay aglutinación pertenece al factor Rh positivo y si no la hay es Rh negativo.

Los cuatro grupos sanguíneos que existen según Landsteiner dependen de la presencia o ausencia de dos aglutinógenos A y B en los eritrocitos, y de dos aglutininas específicas anti-A y anti-B, en el suero. Cuando los hematíes no contienen ningún aglutinógeno , el suero contendrá ambas aglutininas y la sangre pertenece al grupo "O" (donador Universal).

Si los hematíes contienen aglutinógeno A y el suero contiene aglutinina anti-B la sangre pertenece al grupo "A"

Si los hematíes contienen aglutinógeno B y el suero contiene - aglutinina anti-A , la sangre pertenece al grupo "B".

Cuando los hematíes contienen ambos aglutinógenos A y B el suero está libre de aglutininas anti-A y anti-B , la sangre pertenece al grupo "AB".

En otras palabras el suero contiene regularmente aglutininas para los aglutinógenos que faltan. Esto es, en la sangre de un mismo individuo no coexisten las aglutininas y aglutinógenos corres-pondientes.

Los porcentajes de individuos pertenecientes a los cuatro grupos sanguíneos principales, varían según la raza.

Los hematíes de 85% aproximado de los individuos, contienen también el aglutinógeno Rh (Rh +), descubierto por Landsteiner y Wiener. Sus aglutininas respectivas no aparecen normalmente en la sangre.

Sin embargo el aglutinógeno es antigénico y las repetidas - transfusiones con hematíes Rh (+) pueden producir aglutininas Rh.

Estas pueden también aparecer durante el embarazo por la 1^o inmunización provocada por el aglutinógeno Rh presente en el feto.

Si la sangre de los receptores contienen grandes cantidades de ésta aglutinina la transfusión con hematíes Rh puede producir reacciones.

PRUEBA DE COOMBS.- El suero anti-humano, suero de Coombs llamado también suero anti-globulínico, provoca una aglutinación visible de células recubiertas y establece así una reacción previa entre el eritrocito y el anticuerpo. Si no se hubiese producido ese recubrimiento, el suero anti-humano dejaría las células sin aglutinar.

El recubrimiento del eritrocito puede haberse efectuado in vivo en casos de eritroblastosis fetal, anemia hemolítica y reacciones hemolíticas por transfusión; cuando se consideran estos diagnósticos se utiliza la prueba directa.

Esta prueba directa determina si ha tenido lugar el recubrimiento natural previo in vivo de los eritrocitos y consiste, en poner en contacto hematíes del paciente, previamente lavado con solución salina, con suero de conejo antiglobulina humana.

Técnica.-

1.- Se levantan tres veces con suero fisiológico al 0.9% los eritrocitos problema.

2.- Con suero fisiológico 0.9% se prepara una suspensión al 2% de los eritrocitos centrifugados.

3.- En un pequeño tubo de ensayo se ponen dos gotas de suero antiglobulina humana y se agrega una gota de eritrocitos al 2%.

4.- Se incuba a 37°C durante 30 minutos.

5.- Se agitan suavemente los tubos y se examinan a simple vista para ver si hay aglutinación.

6.- Si el resultado es negativo, se centrifuga durante 2 minutos a 1000 r.p.m. y se examina la aglutinación a simple vista o al microscopio.

Puede usarse eritrocitos de un adulto del grupo "O" Rh (+) como testigo POSITIVO, o eritrocitos grupo "O" Rh (-) como testigo negativo.

METODO INDIRECTO.- La prueba de Coombs indirecta consiste en poner en contacto suero del paciente con hematíes de otra persona de tipo distinto para que sensibilicen, luego lavar estos hematíes, y practicar con ellos la prueba de aglutinación con suero de conejo antiglobulina humana.

TECNICA.- Con solución salina al 0.9 % lavamos eritrocitos-Grupos "O" Rh (+) cinco veces.

2.- Con suero fisiológico al 0.9 % se prepara una suspensión al 2% de los eritrocitos centrifugados..

3.- Numeramos diez tubos de ensayo pequeños y colocamos en cada uno de ellos tres gotas de solución salina al 0.9 % con excepción del primer tubo.

4.- Agregamos tres gotas de suero problema al primero y segundo tubo, mezclamos perfectamente bien el segundo tubo y de ahí pasamos tres gotas al tercero, mezclamos y pasamos tres gotas al cuarto y así sucesivamente hasta llegar al número diez en que se desechan las últimas tres gotas.

5.- Agregamos a cada uno de los tubos tres gotas de la suspensión de eritrocitos al 2% y se incuban a 37°C. durante 15 minutos.

6.- Lavamos cinco veces con solución salina, en el último lavado escurrimos perfectamente la solución salina y agregamos una gota de antígeno de Coombs, centrifugamos y observamos hasta que tubo hay aglutinación.

Se reporta hasta el tubo en que haya habido aglutinación

Las diluciones son:

TUBO No.	1	POSITIVO S/D (suero din diluir)
" "	2	" 1:2
" "	3	" 1 : 4
" "	4	" 1 : 8
" "	5	" 1 : 16
" "	6	" 1 : 32
" "	7	" 1 : 64
" "	8	" 1 : 128
" "	9	" 1 : 256
" "	10	" 1 : 512

Esta prueba la hacemos en las mujeres embarazadas Rh negativo.

Así la prueba de Coombs directa trata de demostrar que los hematíes del paciente están recubiertos por un anticuerpo; la reacción pues se hace usando hematíes del paciente. La prueba de Coombs indirecta que se hace sobre el suero del paciente, trata de demostrar que en este suero existen anticuerpos capaces de unirse a cierto tipo de hematíes.

CAPITULO IV

RECUE NTO DE ERITROCI TOS

RECUESTO DE ERITROCITOS.

FUNDAMENTO.-

Este recuento se solicita ocasionalmente en el estudio de las anemias. También puede efectuarse en contadores electrónicos automáticos o bien por el método manual en la cámara de recuento. Entre los líquidos utilizados para la dilución figuran la solución de Hayem, la solución fisiológica o la solución de Gower. Los principales componentes de la solución de Hayem (como ya se dijo antes) son el cloruro mercurico, el cloruro de sodio y el sulfato de sodio. Los principales componentes de la solución de Gower son el sulfato de sodio y el ácido acético. Se utiliza la pipeta para glóbulos rojos (fig. 1)

TECNICA. Se aspira sangre hasta la marca 0.5 y líquido de dilución hasta la marca 101, resultando una dilución de 1:200. El líquido de dilución es isotónico con los glóbulos rojos, lo que impide que se hinchen o contraigan. Después se agita la dilución durante 2 a 3 minutos, se desechan las 5 primeras gotas que salen de la pipeta, y se carga la cámara tocando con la punta de la pipeta el borde del cubreobjetos en la porción situada encima del rectángulo central donde se halla el retículo y por capilaridad se llenará la cámara.

Se dejan sedimentar las células y se lleva la cámara a la platina del microscopio después de enfocar se efectúa la cuenta de los eritrocitos.

La cuadrícula está formada de cierto número de pequeños cuadros marcados sobre el porta-objetos, que miden 0.05 por 0.05 mm. ó 0.0025 mm^2 . Cuando el cubre-objetos está en posición correcta se forma una cámara que mide 0.1 mm. de profundidad por lo que los pequeños cuadros corresponden a volúmenes de 0.00025 mm^3 ($0.05 \times 0.05 \times 0.1 \text{ mm} = 0.00025 \text{ mm}^3$).

Se cuenta el número de glóbulos en 80 de estos pequeños cuadros, los cuales se hallan separados en grupos de 16 por lo tanto 5 de estos grupos contienen 80 cuadros pequeños. Al contar debe incluirse únicamente los que estén sobre las líneas superior e izquierda.

Se divide el número de glóbulos contados entre 80 para deter-

minar el número medio por cuadrado, o sea en 0.00025 mm³.

Este número obtenido se multiplica por 4000 para determinar el número contenido en 1 mm³ de sangre diluida y por 200 para saber el contenido en 1 mm³ de sangre sin diluir.

Nosotros contamos el número de glóbulos en 80 cuadros pequeños y añadimos cuatro ceros a la derecha de cifras hallada, que equivale igual que si se hicieran las operaciones anteriores.

F O R M U L A :

$$X = \frac{N \times C \times A \times D}{S}$$

N = No. de elementos contados en la superficie S

C = No. de cuadros por mm.

A = Relación entre 1 mm. y la profundidad de la cámara de dilución.

S = Superficie en cuadros contados

D = Dilución

X = No. de elementos por mm³.

Substituyendo:

$$X = \frac{N \times 400 \times 10 \times 200}{80} = \frac{N \times 800,000}{80} = N \times 10,000$$

VALORES NORMALES.-

recién nacido - - - - -	5.6 a 6.3 millones por mm ³
niños - - - - -	4.0 a 5.0 millones por mm ³
hombres - - - - -	5.0 a 6.1 millones por mm ³
mujeres - - - - -	4.8 a 5.5 millones por mm ³

TESIS DONADA POR D. G. B. - UNAM

Causas de Error .-

En los recuentos de glóbulos rojos y blancos existe un margen de error en más o en menos de un 10 % cuando se utilizan los medios manuales. Entre las causas de error encontradas en estos métodos, figuran:

- 1.- Agitado imperfecto
- 2.- Suciedad del material
- 3.- Error en la aspiración de sangre y dilución hasta las marcas correctas.
- 4.- Desecamiento del líquido en la cámara de recuento
- 5.- Errores en el recuento y en el cálculo
- 6.- Material de vidrio y cámaras de conteo astilladas o con rayaduras
- 7.- Olvido de descartar el líquido de dilución de la pipeta antes de cargar la cámara.
- 8.- Carga Excesiva de la cámara.

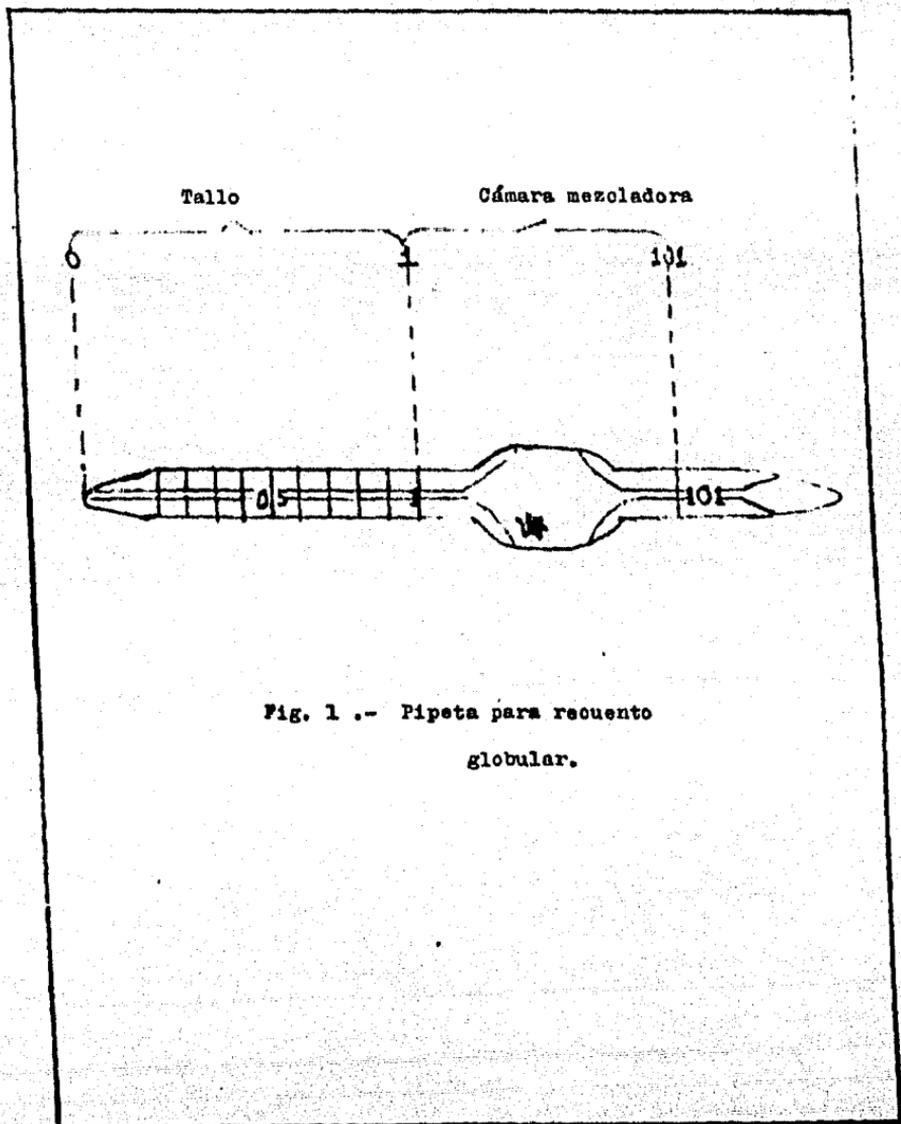


Fig. 1 .- Pipeta para recuento
globular.

**A.- DETERMINACION DE LA VELOCIDAD DE SEDIMENTACION DE LOS
HEMATILES O ERITROSEDIMENTACION.-**

FUNDAMENTO.-

La Velocidad de sedimentación de los glóbulos rojos se refiere al tiempo que tardan en separarse del plasma. Se la mide en milímetros por hora. La concentración de las diversas proteínas plasmáticas afecta a la eritrosedimentación y en muchas enfermedades se altera la relación entre las proteínas, con la consiguiente aceleración de la eritrosedimentación. Una disminución en el número de glóbulos rojos también la acelera y en algunos laboratorios se corrige su resultado en los casos de anemia utilizando una tabla de corrección. Además de las elevaciones producidas en procesos infecciosos e inflamatorios, se producen elevaciones fisiológicas en el embarazo y durante la menstruación. La velocidad de eritrosedimentación disminuye en la anemia falciforme y en las hepatopatías severas.

La prueba debe efectuarse dentro de las dos horas de recogida la muestra de sangre, a temperatura ambiente. De los procedimientos existentes, los más difundidos son los de Wintrobe y de Westergren . (fig.2).

TECNICA.-

En el método de Wintrobe, se coloca sangre venosa con anti coagulante en un tubo de Wintrobe, utilizando una pipeta de Wintrobe. Deben evitarse las burbujas de aire. El tubo se llena hasta la marca cero y se coloca en un sostén en posición vertical. La escala se lee hacia abajo, representado cada número 1 cm, o 10 mm. La lectura se efectúa una hora después de colocado el tubo en el soporte vertical.

Según Wintrobe los valores normales son de:

	SEXO	LIMITES	PROMEDIO
Hombres	- - - - -	0 - 7 mm/hora	4 mm/hora
Mujeres	- - - - -	0 -15 mm/hora	10 mm/hora
Niños	- - - - -	1 -15 mm/hora	5-10 mm/hora

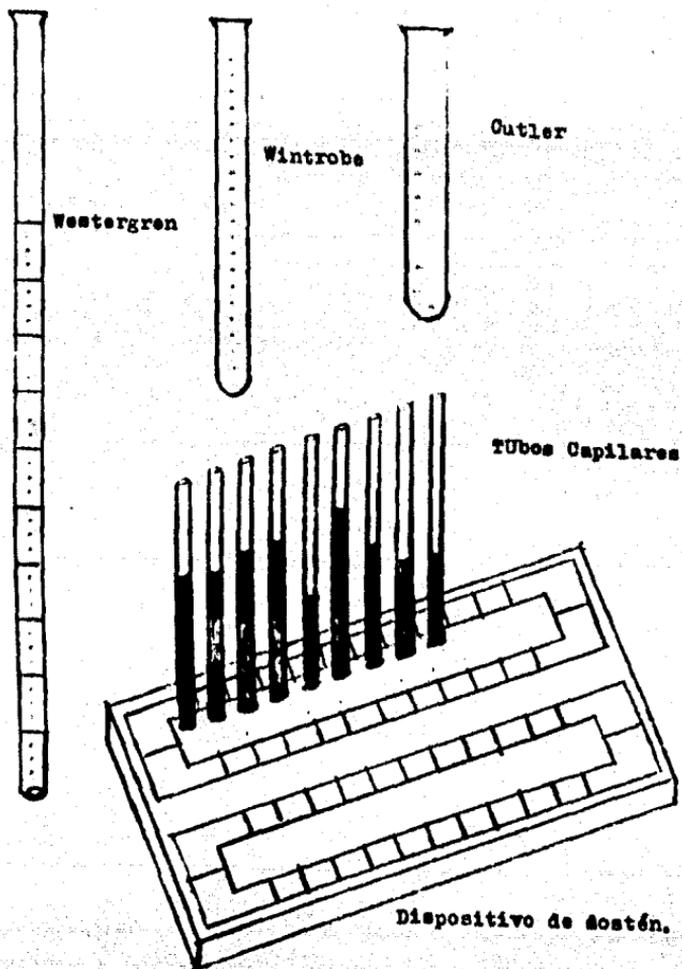


FIG 2.- Hematócrito y métodos de eritrosedimentación.

Factores técnicos que influyen en la velocidad de Sedimentación:

- 1.- Tubos de hematocrito mal lavados, si existen trazas de plasma de otras sangres puede provocar una aglutinación de grupo y con ello dar lugar a una velocidad de sedimentación - falsamente muy acelerada.
- 2.- La inclinación del tubo es otro de los factores ya que dicha desviación de la vertical causa aceleración en la velocidad de sedimentación.
- 3.- Los anticoagulantes con excepción de la heparina también influyen.
- 4.- La prueba debe realizarse lo más pronto posible después de la extracción de sangre. ya que cualquier retardo disminuye la velocidad de sedimentación.
- 5.- La temperatura es otro de los factores importantes, cuánto más alta sea, mayor será la velocidad de sedimentación.
- 6.- El calibre de los tubos modifica dicha velocidad cuando es inferior a 2 mm.
- 7.- La longitud del tubo también influye en la velocidad de sedimentación.
- 8.- Pequeños coágulos de fibrina ya que al privar a la sangre - del fibrinógeno se retarda la velocidad de sedimentación.

Existen algunas causas que no dependen de las operaciones sino, de la sangre extraída cuando esta contiene aglutininas.

En este caso el químico deberá hacerlo notar en el reporte.

B./ DETERMINACION DEL HEMATOCRITO

El hematocrito representa el volumen porcentual ocupado por los glóbulos rojos acumulados después de centrifugar la sangre. Los hombres adultos tienen normalmente un hematocrito de 42 a 50% y las mujeres adultas una cifra menor, de 40 a 48%. Como en la mayoría de los casos de anemia el hematocrito disminuye por debajo de lo normal, puede utilizarse para el diagnóstico de anemia. Su aumento se produce en condiciones tales como la deshidratación o ante la producción excesiva de glóbulos rojos en la policitemia vera.

Un método para la determinación del hematocrito es el macrométodo de Wintrobe. Se llena un tubo de Wintrobe con 5 ml de sangre venosa con anticoagulante. Se centrifuga el tubo durante 30 minutos a 3000 rpm. y se lee el nivel de los glóbulos rojos acumulados sobre la escala graduada. Esta lectura se multiplica por 10 para obtener el valor del hematocrito en tanto por ciento (véase fig. 2).

La técnica del micrométodo es ahora más ampliamente utilizada. Puede utilizarse sangre oxalataada bien mezclada, de origen venoso o de la yema del dedo, con la cual se llena un tubo capilar heparinizado hasta alrededor de los tres cuartos de su altura. Se sella uno de sus extremos con arcilla y se coloca el tubo en una centrifuga para microhematocrito con su extremo abierto hacia el centro de la misma. Después de centrifugar a máxima velocidad durante 10 minutos, se coloca el tubo capilar en un aparato para lectura de microhematocrito. El porcentaje de células (glóbulos rojos) se lee directamente después de adaptar el tubo a la escala graduada. El microhematocrito posee sobre la macrotécnica la evidente ventaja de utilizar una menor cantidad de sangre y de no requerir cantidades críticas de anticoagulante.

C.- DETERMINACION DE LA HEMOGLOBINA.

METODO DE LA CIANOMETAHEMOGLOBINA.-

La hemoglobina es producida en los glóbulos rojos en desarrollo (normoblastos). Está compuesta por el hem (un pigmento con capacidad de transporte de oxígeno) y la globina (una proteína responsable de la especificidad de especie y del transporte de anhídrido carbónico). En la molécula de hemoglobina hay 4 estructuras de hem unidas a cada una de globina. El hem está compuesto de hierro reducido (Fe^{++}) unido a protoporfirina.

FUNDAMENTO.-

Diluyendo la sangre en una solución de cianuro y ferricianuro potásico, se oxida la hemoglobina que pasa a metahemoglobina, la cual a su vez, se transforma en cianometahemoglobina. - que es un compuesto estable y con una banda de absorción característica de 530 a 560 milimicrones de longitud de onda.

METODO.-

En un tubo de 16 x 150 se miden exactamente 10 mililitros del reactivo de Drabkin se colocan en el 0:020 microlitros de sangre medidos con pipeta especial (Sahli) quedando una dilución 1:501 .

Se mezclan por inversión, se deja reposar 10 minutos y se lee a 540 milimicrones de longitud de onda en fotocolorímetro de Leitz en por ciento de transmitancia, contra un blanco del diluyente de Drabkin.

La lectura la traducimos directamente en la curva de calibración.

Standardización.- Utilizamos patrones comerciales de concentración conocida y el cálculo de la concentración en cada tubo se hace aplicando la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{mg. del Stnd. } \times 501}{10 \times 1,000} \times 100 = \text{mg. del Stnd. } 5.01 = \text{gs. de Hemoglobina} \times 100 \text{ ml. de sangre.}$$

D.- DETERMINACION DEL VOLUMEN GLOBULAR MEDIO.

Esta determinación se calcula a base del volumen de los hematíes centrifugados correspondientes a 100 cm³ de sangre (hematocrito) entre el número de millones de hematíes por mm³ y el resultado se multiplica por 10.

Hematocrito X 10 = volumen globular medio en micras
millones de hematíes cúbicas . (V.G.M.)
por milímetro cúbico

Cuando los glóbulos rojos son mayores que lo normal se dice que hay macrocitosis y si va acompañada de anemia se dice que hay anemia macrocítica.

Cuando son menores que lo normal se llaman microcitos o sea que hay microcitosis y en caso de que vaya asociada con anemia - se dice que es anemia microcítica.

En caso de que sean normales y haya anemia se dice que es a anemia normocítica y los hematíes se llaman normocíticos.

VALORES NORMALES

Recién nacido - - - - -	105	micras cúbicas
Niños - - - - -	87 a 73	micras cúbicas
Adultos - - - - -	82 a 92	micras cúbicas

E.- DETERMINACION DE LA HEMOGLOBINA GLOBULAR MEDIA.

Es el peso medio de la hemoglobina contenida en cada hematíe. Se calcula determinado la hemoglobina en gramos por 100 cm³ de sangre dividiéndola por el número de millones de hematíes por milímetro cúbico y se multiplica el resultado por 10.

$$\frac{\text{gr. de hemoglobina en } 100 \text{ cm}^3}{\text{millones de hematíes por mm}^3} \times 10 = \text{Hemoglobina globular media en micromicrogramos}$$

Cuando la cantidad de hemoglobina por cada hematíe es menor que lo normal se dice que hay hipocromia y si se acompaña de anemia, es una anemia hipocrómica.

VALORES NORMALES

Al nacer - - - - -	40	micromicrogramos
Niños - - - - -	33 a 27	micromicrogramos
Adultos - - - - -	29 a 32	micromicrogramos.

**F.- DETERMINACION DE LA CONCENTRACION GLOBULAR
MEDIA DE HEMOGLOBINA**

Es la concentración de hemoglobina, expresada en gramos correspondiente a 100 cm³ de eritrocitos centrifugados.

Se calcula dividiendo el número de gramos de hemoglobina de 100 cm³ de sangre por el hematocrito, multiplicando por 100 el resultado.

$$\frac{\text{Hemoglobina en gramos por } 100 \text{ cm}^3 \text{ de sangre}}{\text{Hematocrito}} \times 100 = \text{Concentración globular media de hemoglobina (G.G.M.H.)}$$

VALORES NORMALES

Recién nacidos	- - - - -	35
Niños	- - - - -	31 a 34
Adultos	- - - - -	30 a 34

CAPITULO V

RECUESTO DE LEUCOCITOS.

RECUESTO DE LEUCOCITOS.

FUNDAMENTO.-

Este recuento consiste en determinar el número de glóbulos blancos por milímetro cúbico de sangre. En estado de salud, este número varía entre 5,000 y 10,000. Su aumento indica un cuadro inflamatorio.

En los laboratorios automatizados, el recuento leucocitario puede efectuarse con contadores electrónicos. Se utiliza una muestra de sangre con anticoagulante; los glóbulos rojos se hemolizan por agregado de un agente hemolítico tal como la saponina. - Después de una dilución adecuada, la muestra se hace pasar a través del instrumento. Cada vez que una célula pasa frente a una estrecha abertura, actúa a manera de un "ojo eléctrico", interrumpiendo transitoriamente el paso de la luz y con él, un circuito eléctrico. El recuento se hace sobre la base del número de interrupciones.

Aún en los laboratorios equipados con contadores automáticos, puede utilizarse el método microscópico manual para el recuento de glóbulos blancos. El primer paso consiste en diluir la muestra con HCl 0,1 N ó ácido acético al 2% y hemolizar los glóbulos rojos. Esto se hace en una pipeta para recuento leucocitario, con un tubo de goma para aspiración agregado.

TECNICA.-

Se aspira sangre hasta la marca 1.0 y luego líquido de dilución hasta alcanzar la marca 11. Esto produce la entrada de 10 unidades en la cámara mezcladora, con 1 parte de sangre por cada 9 de diluyente, dando una dilución 1:10. Similarmente, si se aspira sangre hasta la marca 0.5 y se agrega líquido de dilución hasta la marca 11, las unidades de la cámara mezcladora

contendrán 0.5 partes de sangre por cada 9.5 partes de diluyente, con una dilución 1:20. Después de agitar adecuadamente durante unos 10 segundos para impedir la aglutinación de las células sanguíneas, se carga con esta solución una cámara para recuento celular (hemocitómetro). Es importante recordar que debe eliminarse el líquido diluyente de la porción longitudinal de la pipeta antes de cargar la cámara con la sangre diluida que se encuentra en la cámara mezcladora. La cámara de recuento consiste en un grueso porta-objetos con estrías o surcos que lo cruzan paralelamente y una plataforma central más baja que las adyacentes y limitada por una o más áreas de la trama. Hay un cubre-objetos sobre las dos plataformas externas más elevadas, produciendo la formación de una cámara en el dispositivo.

Para el recuento leucocitario de la sangre, se utiliza habitualmente la cámara de Neubauer en la cual hay 9 cuadros de igual superficie (9 milímetros cuadrados); los cuatro correspondientes a los ángulos se subdividen en 16 cuadrados más pequeños y el central en 25 grupos de 16 cuadrados. La profundidad de la cámara es de 0.1 mm. La cámara de Fuchs-Rosenthal, utilizada para el recuento leucocitario y líquido cefalorraquídeo, tiene una profundidad de 0.2 mm y una división en 16 cuadrados de un milímetro separados entre sí por líneas triples. Estos cuadrados se subdividen a su vez en 16 cuadros más pequeños, cada uno con una superficie de 1/16 milímetros cuadrados.

La cámara de Levy-Hausser y también la de "líneas brillantes" de Spencer pueden aplicar la división de Neubauer. La cámara de Levy-Hausser consiste en una cámara de conteo montada sobre baquelita moldeada, con lo cual se reduce al mínimo el riesgo de ruptura y se protege la superficie contra rayaduras. La cámara de "líneas brillantes" de Spencer posee una capa transparente de metal fusionada con la superficie del vidrio. Las líneas dibujadas sobre el metal se destacan por su brillo, con un

mínimo de reflejo.

La cámara cuádruple de Levy posee tanto la división de - - Fuchs-Rosenthal como la de Neubauer.

Después de dejar sedimentar las células durante 1 a 2 minutos en la cámara, se localiza la porción de un milímetro cuadrado que se encuentra más arriba y a la izquierda de la división de - Neubauer y se cuenta el número de células que en ella se encuentran. Este procedimiento se repite con las divisiones superior - derecha, inferior derecha e inferior izquierda. Solamente se tienen en cuenta las células que se encuentran dentro del cuadrado - o que tocan sus límites izquierdo o superior. El total de células en estos cuatro milímetros cuadrados se divide ^{entre} por 4, para obtener el promedio. Este promedio se multiplica por la dilución y por la recíproca de la profundidad de la cámara (10). Este cálculo (para un factor de dilución de 20) puede abreviarse como sigue:

Leucocitos en $4 \text{ mm}^2 \times 50 =$ Número de leucocitos por mm^3

CAUSAS DE ERROR:

Las mismas que se describieron al tratar de la cuenta de eritrocitos.

Además es muy importante el error que consiste en confundir con leucocitos los normoblastos ya que el núcleo de estos eritrocitos no es lizado por el ácido acético del líquido de dilución.

Resulta de gran importancia en casos de eritroblastosis fetal y de anemia de Cooley. Pues la sangre de estos pacientes con tienen gran cantidad de eritrocitos nucleados.

A.- PREPARACIÓN Y TINCION DE EXTENCIONES DE SANGRE

Extendidos sanguíneos

Los extendidos sanguíneos se preparan con el fin de efectuar un recuento diferencial de los glóbulos blancos, de examinar la morfología de los mismos en busca de células anormales, de examinar la morfología de los glóbulos rojos y también de examinar el tamaño y número de las plaquetas.

Para preparar los extendidos, se utiliza sangre fresca con oxalato o de la yema del dedo. En el método del portaobjetos, se sumergen dos varillas de madera en el tubo que contiene la sangre o bien se coloca una gota de sangre de la yema del dedo sobre el portaobjetos, por contacto con el mismo. Se toma otro portaobjetos y se lo utiliza para dispersar la gota de sangre, manteniéndolo en un ángulo de 25 grados respecto del primero. Un buen extendido muestra una transición gradual de la zona más espesa a la más fina y no llega hasta el borde del portaobjetos. Para disminuir la distorsión celular, los extendidos se secan rápidamente al aire, agitándolos. Se graba el nombre del paciente en el extremo con etiqueta.

Las células se tifican con el colorante de Wright o de Giemsa. En cada caso, es necesario seguir estrictamente las instrucciones relativas al pH de la solución "buffer" y a los tiempos. De los dos colorantes, el más difundido es el de Wright, que consiste en una solución de eosina y azul de metileno en alcohol metílico. - Los glóbulos blancos tienen predilección por el azul de metileno mientras que los rojos se tifican con la eosina. Los glóbulos blancos con gránulos que toman ambos colorantes se denominan neutrófilos, mientras que las células con gránulos que toman el azul de metileno, de reacción básica, son los basófilos. Los gránulos de algunos glóbulos blancos se tifican con la eosina y son los eosinófilos. Cuando la solución "buffer" es demasiado ácida, la eosin

na aparecerá con tono demasiado intenso y el azul de metileno - con tono demasiado débil. En cambio, si la solución es alcalina será intensa la coloración azul. La mayoría de las soluciones - "buffer" utilizadas con la coloración de Wright deben tener su pH en un valor situado entre 6.4 y 6.8. En algunas circunstancias, pueden utilizarse agua destilada como solución "buffer".

B.- LECTURA DE LA FORMULA LEUCOCITARIA

Para la determinación de la FORMULA LEUCOCITARIA , los extendidos se examinan a través de una lente sumergida en aceite - y los leucocitos se identifican por sus características y grado de desarrollo (figura 4). Los plasmocitos, los glóbulos blancos-anormales y los glóbulos blancos inmaduros son especialmente importantes, de estar presentes. Después de un examen general, se cuentan 100 glóbulos blancos en la zona fina del extendido, bajo inmersión en aceite. Cada célula se identifica y registra. Los linfocitos anormales y los plasmocitos se incluyen dentro de las 100 células contadas, no así las células desintegradas.

Después de este recuento diferencial, se examinan los eritrocitos (glóbulos rojos) en cuanto a su tamaño, forma, color e inclusiones. Normalmente son discos bicóncavos, pálidos en el centro, de unos 7 micrones de diámetro. Los glóbulos rojos inmaduros presentan núcleos o material nuclear. Se registra la presencia - de todo glóbulo inmaduro o anormal. Las anomalías más frecuentemente halladas en los eritrocitos son la hipocromía (pálidez) , anisocitosis (diferencias de tamaño), poiquilocitosis (formas anormales) y policromasia (coloración azul), debiendo ser cuidadosamente examinados en busca de ejemplos de microcitosis (tamaño-pequeño), macrocitosis (tamaño grande), esferocitosis (forma esférica) y otras anomalías.

Por último, se hace un examen subjetivo de las plaquetas. - Su presencia en cantidad anormal o aquellas de tamaño anormalmente grande requieren un registro especial. El recuento preciso de las plaquetas se hace por medio de un procedimiento independiente

Los hallazgos efectuados en el extendido pueden correlacio-

ERITROCITOS	LEUCOCITO		
		GRANULOCITOS	
TROMBOCITOS	MONOCITO	BASOFILO	JUVENIL
	LINFOCITO	BOSINOFILO	NUCLEO EN CAYADO / SEgmentado NEUTROFILO

FORMULA LEUCOCITARIA

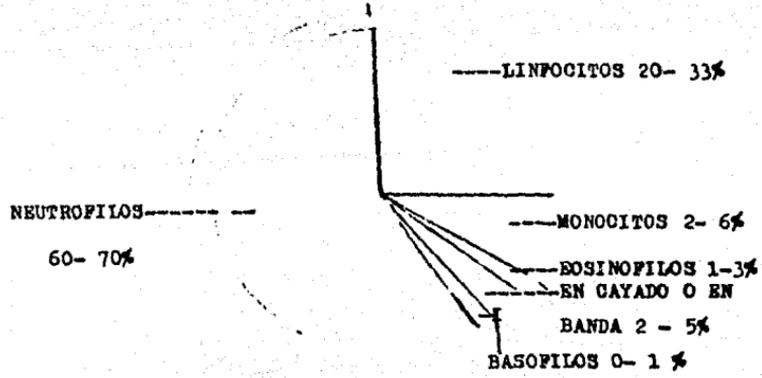


FIG 4 .- Variedades de células de la sangre.

narse con otros valores determinados, tales como el recuento leucocitario, el recuento eritrocitario, el hematócrito y la concentración de hemoglobina. Si alguna de estas correlaciones escapara a lo lógicamente esperado, debe investigarse la existencia de un posible error de laboratorio.

Los extendidos de la sangre de médula ósea son de particular interés para los médicos cuando se sospecha alguna afección severa de la sangre. Los eritrocitos, los leucocitos segmentados y las plaquetas tienen su origen en la médula ósea. Se utiliza la coloración de Wright con una solución "buffer", requiriéndose un período de coloración más prolongado que para los extendidos de sangre periférica. Los recuentos diferenciales y el examen son generalmente realizados por el anatomopatólogo y uno de los técnicos más experimentados especializado en hematología. La aspiración de médula ósea para obtener el material es siempre efectuada por un médico.

VALORES NORMALES A LA FORMULA LEUCOCITARIA.

Linfocitos	- - - - -	de 20	- 33	%
Monocitos	- - - - -	de 2	- 6	%
Mielocitos	- - - - -		0	%
Metamielocitos	- - - - -	de 0	- 1	%

Neutrofilos - - - - - de 60 - 70 %

En banda - - - - - de 2 - 5 %

Segmentados - - - - - de 51 - 67 %

Basófilos - - - - - de 0 - 1 %

Eosinófilos - - - - - de 1 - 3 %

CAPITULO VI

RECUENTO DE PLAQUETAS.

RECuento DE PLAQUETAS.

Las plaquetas se forman a partir de fragmentos del citoplasma de los megacariocitos en la médula ósea y poseen una vida útil de sólo pocos días. Son normalmente pequeñas (1 a 4 micrones) Su citoplasma se tinte de azul poco intenso y contiene gránulos pequeños agregados entre sí y de color azul, que tienden a adherir uno con otro. Seis horas después de extraída la sangre de un donante, gran parte de las plaquetas ya han sufrido un proceso de destrucción. Una de las funciones de las plaquetas es la detención de las hemorragias y constituyen un factor de la coagulación. Generalmente aparecen hemorragias en cuanto al recuento de plaquetas disminuye por debajo de 60,000 por mm^3 .

En la púrpura trombocitopénica idiopática las plaquetas normales desaparecen con tanto rapidez como son transfundidas, y se considera que la enfermedad se debe a una poderosa aglutinina antiplaquetaria. Las plaquetas revelan variación en el tamaño y en las cualidades de coloración, el tiempo de sangría se halla prolongado y en la médula ósea puede hallarse un aumento de megacariocitos.

La trombocitopenia (disminución en el número de las plaquetas) también se produce en la leucemia o por la acción de algunos agentes físicos tales como los rayos X o las drogas.

METODO INDIRECTO DE FONIO.

Método muy sencillo aunque no muy exacto. Para hacerse esta determinación se prepara la yema del dedo del paciente y se de-

posita sobre ella una gota de solución de sulfato de magnesio - al 14 % se practica la punción con una lanceta desechable.

Mediante presión suave se hace fluir la sangre, en el interior de la gota de sulfato de magnesio, cuando se calcula que la preparación es aproximadamente de una parte de sangre por 5 de solución se mezcla cuidadosamente.

Se traslada una gota cuidadosamente a un porta objetos limpio y se hacen varias extensiones de sangre en la forma acostumbrada.

Se tñe la preparación por el método de Leisham y Giemsa se observa con el objetivo de inmersión reduciendose el campo con un pequeño cuadro de papel que se coloca en el ocular del microscopio.

Se enfoca y se cuenta el número de hematíes y de plaquetas que hay en ese campo y se cuentan varios campos de la preparación hasta completar 1000 hematíes.

El número de plaquetas contadas correspondientes a 1000 hematíes se multiplica por el número de millones de hematíes que dió el recuento efectuado.

$$\frac{\text{Núm. plaquetas contadas por número de hematíes} \times \text{plaquetas} \times \text{mm}^3}{1\ 000} = \text{de sangre}$$

Las cifras normales varían de 250,000 a 500,000 por mm³ de sangre.

CAPITULO VII

CELULAS L. E.

LUPUS ERITEMATOSO (L.E.)

Una de las manifestaciones de laboratorio del lupus eritematoso puede demostrarse poniendo el núcleo de los leucocitos lesionados en contacto con la globulina anormal de los pacientes de L. E. en presencia de otros leucocitos que pueden efectuar su función fagocítica. Esto produce la formación de una célula blanca, habitualmente un neutrófilo, que contiene una masa homogénea de material que se tiñe de púrpura que llena casi del todo la célula y comprime al núcleo: La célula L.E (fig. 5)

Si bien las células L.E. son habitualmente diagnósticas de lupus eritematoso, pueden hallarse también en reacciones tóxicas a ciertas drogas y en ciertos casos de artritis reumatoidea.

Además de la formación de células L.E. los fenómenos L.E. incluyen además la formación de acúmulos y rosetas de fagocitos que engloban un material homogéneo, que se tiñe de púrpura, situado en el centro de la roseta.

Los fenómenos L.E. se originan en la acción de anticuerpos antinucleares dirigidos contra las proteínas nucleares de las células del enfermo. Estos son autoanticuerpos. Los fenómenos L.E. pueden ser suprimidos por medio del ACTH o por el tratamiento con corticoides, pero fuera de ello son positivos en el 75 al 80% de los pacientes con L.E. El técnico debe cuidar de no confundir las células L.E. con las células de Tart. Las células de Tart son leucocitos polimorfonucleares que han fagocitado núcleos que retienen la disposición cromatínica y que no contienen cuerpos de inclusión homogéneos, que se tiñen de púrpura.

Se han desarrollado varias técnicas para la demostración -

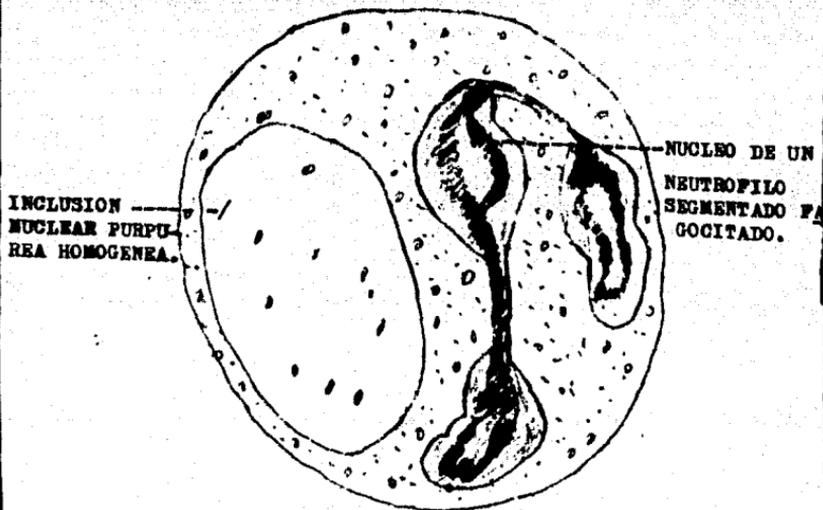


FIG. 5.- CELULA L.E.

de la existencia de células L.E., todas las cuales se basan en -
determinados mecanismos para provocar la disrupción de los glóbu-
los blancos, con liberación del material nuclear, tal como el pro-
cedimiento de "triturar" un coágulo haciéndolo pasar por una tra-
ma de acero inoxidable.

Recientemente se ha desarrollado una prueba de anticuerpos
con fluorescencia, en la cual se hace reaccionar gamma globulina
antihumana fluorescente, glóbulos blancos humanos normales de san-
gre periférica y suero del paciente. Si el paciente tiene L.E. el
núcleo de los glóbulos blancos revelará fluorescencia. Esta prue-
ba es positiva en el 95% al 100% de pacientes con L.E., si bien
pueden hallarse casos con falsos resultados positivos, especial-
mente en personas de edad avanzada.

CAPITULO VIII

INVESTIGACION DE PARASITOS

SANGUINEOS.

INVESTIGACION DE PARASITOS SANGUINEOS (PALUDISMO).

La búsqueda del parásito en la sangre (esquizonte, anillos intraeritrocitarios o gametocitos) puede verificarse en las preparaciones frescas, sin tñir (procedimiento de difícil identificación) en las extensiones coloreadas por el método de Leishman y Giemsa, o bien por el método de la gota gruesa y coloración por Giemsa.

Cuatro son las especies del género Plasmodium: Plasmodium vivax que produce la fiebre terciana cuyos paroxismos se producen cada 48 horas.

Plasmodium malarie, que ocasiona la fiebre cuartana con paroxismos repetidos cada 72 horas; Plasmodium falciparum causante de la terciana maligna con paroxismos de repetición irregular; y Plasmodium ovale que produce también fiebres tercianas.

El ciclo vital de estos parásitos consta de dos fases una sexual que se realiza en el cuerpo de un mosquito (anófeles), y otra asexual, que tiene lugar principalmente en los hematíes humanos.

Para el diagnóstico por el laboratorio del paludismo utilizamos extensiones de sangre y preparaciones en gota gruesa.

Las extensiones dan excelente resultado para el estudio morfológico diferenciación de las distintas especies de Plasmodium.

METODO.— Se limpia o lava la parte donde se va hacer la punción, puede ser el lóbulo de la oreja o la yema de un dedo se seca con algodón o gasa asegurándonos de que no quede alcohol en la piel, la punción cutánea se hace suficientemente profunda para que la sangre brote bien.

Se pone una gota de sangre en el extremo de un porta objetos y con la ayuda de otro se hace la extensión.

Para la gota gruesa colocamos una gota de sangre en un porta objetos y con el extremo de otro desfibrinamos la gota de sangre con movimientos circulares y dejamos que seque el aire.

.. Coloración de las extensiones de sangre.

Las extensiones de sangre las coloreamos por el método de Leishman y Giemsa, la gota gruesa la sumergimos en agua destilada uno o dos minutos para deshemoglobinizarla totalmente y lisar los eritrocitos, en seguida los colocamos en el colorante diluído de Giemsa durante 30 minutos.

También podemos colocar directamente la preparación de gota gruesa en el colorante diluído de Giemsa, como es hipotónico los eritrocitos son hemolizados. Lavamos con agua destilada. escurrimos las preparaciones y las dejamos secar al aire.

En seguida procedemos a la observación al microscópio y lo hacemos con objetivo de inmersión.

Los plasmodios palúdicos se encuentran en el interior de los eritrocitos, se debe poner mucho cuidado en evitar confundir con parásitos palúdicos las plaquetas sanguíneas que accidentalmente se sobreponen a los eritrocitos; estas plaquetas suelen estar rodeadas de un halo sin teñir.

Otras causas de error son los gránulos de colorante precipitado el polvo y las bacterias.

Los gránulos de colorante precipitado se pueden eliminar sumergiendo la preparación durante un segundo en alcohol de 95% y lavándola inmediatamente en agua destilada.

Generalmente nunca piden identificación de plasmodium más bien lo que interesa al médico es si lo hay o no y se reporta positivo o negativo.

CONCLUSIONES .

Este Tema fué seleccionado tomando en cuenta la importancia que reviste el conocimiento de la Hematología por parte del Cirujano Dentista, en vista de que gran número de padecimientos, presentan manifestaciones en la sangre; debiendo considerarse que mientras más conocimientos se tengan sobre la materia, más capacitado se estará para reconocer y tratar al paciente con un mayor beneficio.

Al efectuar la exploración bucal de un paciente tenemos que valorar en que condiciones se encuentra la salud del paciente y poder prevenir cualquier problema que llegara a presentarse y conociendo sus valores de analisis clínicos hechos previamente a cualquier intervención (como los que se han mencionado en este trabajo) hay un mayor porcentaje de precaución y el éxito que se obtiene en cualquier clase de intervención efectuada es mejor.

B I B L I O G R A F I A .

- I.- TOOD SANFORD .- "DIAGNOSTICO CLINICO POR EL LABORATORIO" . EDITORIAL SALVAT.
- II.- VELEZ OROZCO FERNANDO.- "APUNTES DE ANALISIS QUIMICO CLINICOS" . TERCERA EDICION 1965.
- III.-IOVINE.- SELVA.- "LA CLINICA Y EL LABORATORIO" . EDITORIAL LA PRENSA MEDICA PANAMERICANA.
- IV.- MARCUS E. KHUPP.-"PRONTUARIO MEDICO" . EDITORIAL SIGLO XXI EDITORES.
- V.- WINTROBE M.M. "CHEMICAL HEMATOLOGY" . QUINTA EDICION. EDITORIAL LEA-FEBIGER PHIL. U.S.A.1962.
- VI.- CRAING FAUST.- "PARASITOLOGIA" .EDITORIAL SALVAT.
- VII.-CISCAR Y FARRERAS.- "DIAGNOSTICO HEMATOLOGICO" EDITORIAL JIMIS 1964.
- VIII.- SAMUEL I. RAPAPORT.- "INTRODUCCION A LA HEMATOLOGIA" EDITORIAL SALVAT MEXICANA S.A. 1a. EDICION 1974.