Del hemograma manual al hemograma de cuarta generación

Germán Campuzano Maya[1]

Resumen: el hemograma o cuadro hemático es una de las pruebas que más se solicita al laboratorio clínico, y sin duda alguna, la prueba de laboratorio que más aporta al clínico en la evaluación de un paciente. Desde el punto de vista técnico se reconocen seis tipos de hemograma, que van desde los tradicionales que se hacen con métodos manuales hasta los más sofisticados que se hacen con métodos electrónicos que utilizan una combinación de tecnologías. Se establecen los criterios que definen los tipos de hemograma y se analizan los parámetros desde el punto de vista metodológico, los valores de referencia, las indicaciones clínicas y los aspectos críticos de cada parámetro de acuerdo con la metodología utilizada. El médico debe solicitar el hemograma que le permita tener mayor certeza analítica posible en los parámetros reportados y el laboratorio clínico debe hacer la inversión tecnológica que le permita ofrecer resultados lo más precisos y exactos posible.

Palabras clave: hemograma, cuadro hemático, recuento de células, laboratorio, utilidad clínica, valores de referencia.

Campuzano-Maya G. Del hemograma manual al hemograma de cuarta generación. Medicina & Laboratorio 2007; 13: 511-550.

Módulo 1 (La clínica y el laboratorio), número 65. Editora Médica Colombiana S.A., 2007©.

El hemograma, también conocido como cuadro hemático, biometría hemática o recuento de células sanguíneas, junto con la glicemia y el citoquímico de orina (uroanálisis), es una de las pruebas más solicitadas al laboratorio clínico y uno de los estudios que mayor información aporta al médico sobre la homeostasis de un individuo. A través del tiempo, el hemograma ha sido objeto de múltiples modificaciones en cuanto a los parámetros que lo componen, la forma de obtenerlos, los grados de precisión y de exactitud y la manera de interpretarlo. Para una mejor utilización de los parámetros que el hemograma aporta es de vital importancia conocer el desarrollo que ha acompañado a la prueba y el laboratorio clínico debe permanecer atento al desarrollo tecnológico para incorporar los aspectos de mayor relevancia desde el punto de vista clínico, como una herramienta de rutina que le permita tener pruebas cada vez más exactas, más precisas, a un costo razonable y, sobretodo, de mayor utilidad clínica.

El objetivo de este módulo es analizar los diferentes tipos de hemogramas, de tal manera que el médico disponga de información que le permita utilizar la prueba en toda su dimensión en el diagnóstico y el tratamiento de enfermedades de la sangre o fuera de ella, y que el laboratorio clínico tenga elementos de análisis para tomar decisiones al momento de hacer la prueba o de incorporar tecnología.

[1] Médico especialista en Hematología y Patología Clínica. Profesor, *Ad Honorem*, Universidad de Antioquia. Director, Laboratorio Clínico Hematológico S.A. Medellín, Colombia. Correspondencia: Carrera 43C No. 5-33, Medellín, Colombia. e-mail: gcampuzano@hematologico.com

Anatomía del sistema hematopoyético

Para una mejor interpretación del hemograma es necesario conocer algunos principios del desarrollo y de la fisiología del sistema hematopoyético. La hematopoyesis es el proceso o la suma de subprocesos que regulan el sistema hematopoyético como un órgano, que a pesar de ser líquido, no hay duda de que es uno de los órganos más grandes del organismo con un peso promedio de 2,6 kilos [1]. En estado de equilibrio (homeostasis) los eritrocitos viven 120 días [2], los polimorfonucleares neutrófilos, los polimorfonucleares eosinófilos y los polimorfonucleares basófilos de 8 a 10 horas, los monocitos de 16 a 18 horas, los linfocitos, dependiendo de los subtipos, pueden vivir días, semanas, meses o años y las plaquetas de 9 a 10 días [3, 4].

Todas las células de la sangre son formadas en la medula ósea con una dinámica como se esquematiza en la **figura 1**. A partir de una célula madre (troncal, tronco o *stem cell*), mediante factores de crecimiento, usualmente citoquinas, las células madre se diferencian en células pluripotenciales: las CMP para la línea mieloide, de donde se derivan los polimorfonucleares

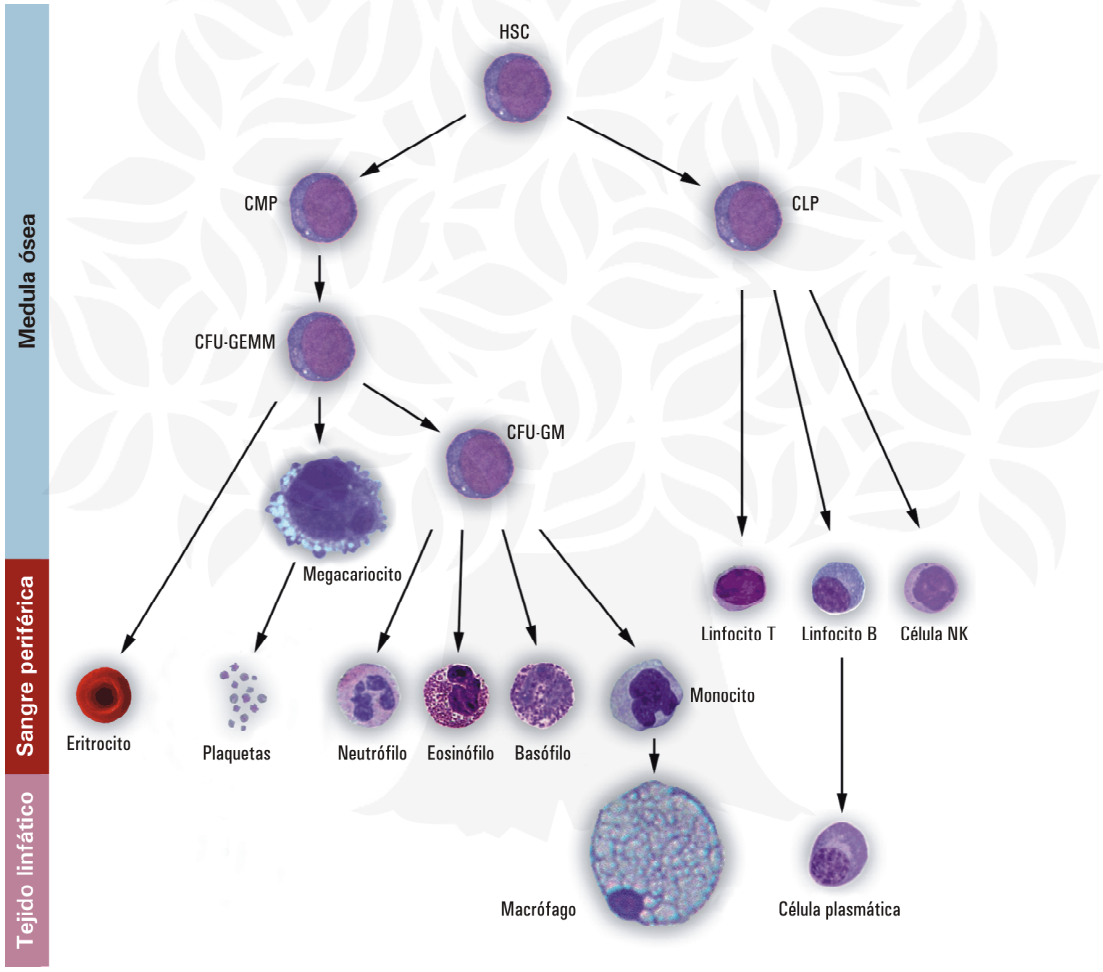

Figura 1. Hematopoyesis. Convenciones: HSC: célula madre hematopoyética; CMP: célula progenitora mieloide; CLP: célula progenitora linfoide; CFU-GEMM: unidad formadora de colonias granulocíticas, eritroides, megacariocíticas y monocíticas; CFU-GM: unidad formadora de colonias granulocíticas y monocíticas.

neutrófilos, los polimorfonucleares eosinófilos y los polimorfonucleares basófilos, y las CLP para las líneas linfoides de donde se derivan los linfocitos que forman parte del timo, bazo y ganglios linfáticos, entre otros órganos. A su vez, cada una de éstas dan origen a unidades formadoras de colonias (CFU) unipotenciales o bipotenciales que a su vez dan origen a células precursoras de eritrocitos, granulocitos, monocitos, linfocitos y plaquetas [5]. Una vez definidas como células precursoras, mediante procesos de maduración, adquieren las características morfológicas y funcionales y son «liberadas» a la circulación sanguínea [5].

El hemograma como prueba de laboratorio permite tener una visión global de la homeostasis del sistema hematopoyético, de ahí la importancia de que se evalúen el mayor número de parámetros y, sobretodo, de que éstos tengan la mayor precisión y exactitud posibles, características que fácilmente se pueden lograr gracias a los grandes avances en el laboratorio de hematología mediante la incorporación de autoanalizadores de hematología de alta eficiencia. Este módulo, sin pretender agotar el tema, busca presentar a la comunidad científica una visión global de la prueba.

El hemograma como una prueba de laboratorio clínico

Ante todo, es importante definir el hemograma como un perfil o conjunto de exámenes que evalúan los diferentes elementos celulares de la sangre, esto es los glóbulos rojos, los leucocitos y las plaquetas, y su interacción con el plasma y sus componentes, como las proteínas [6]. Desde el punto de vista del desarrollo tecnológico, acorde con la época y la disponibilidad de los laboratorios clínicos, el hemograma puede estar compuesto por unos pocos parámetros como la hemoglobina, el hematocrito y el recuento total y diferencial de leucocitos por métodos manuales, como el hemograma tipo I de la Sociedad Colombiana de Patología Clínica [7] y del Ministerio de Protección Social de Colombia [8], hasta los modernos hemogramas, con más de 30 parámetros, de cuarta generación de los autoanalizadores de hematología [9], como el hemograma tipo VI de la Sociedad Colombiana de Patología Clínica [7], disponible en el medio.

El hemograma se define como el análisis cuantitativo y cualitativo de los componentes celulares de la sangre periférica. Las diferencias y las variaciones en la metodología utilizada definen el tipo de hemograma, el número de parámetros o datos aportados y los coeficientes de variación, como índice de precisión y de exactitud, de cada una de las medidas. La utilidad clínica de la prueba está en relación directa con la calidad analítica y el número de parámetros que lo componen, esto es con la exactitud y la precisión de los resultados. De acuerdo con la metodología utilizada y los parámetros que lo componen, en el medio se reconocen seis tipos de hemograma, debidamente codificados y definidos por la Sociedad Colombiana de Patología Clínica [7] que coinciden en su mayoría con los definidos por el Colegio Americano de Patólogos [10] que a su vez, son reconocidos por la Asociación Médica Americana y el Colegio Americano de Patólogos [10] y han sido acogidos por el Ministerio de la Protección Social de Colombia como base de los manuales de contenidos de los planes de salud (CUPS) [8], con excepción de los hemogramas tipo V y VI, recientemente incorporados a los laboratorios clínicos del país. A continuación se relacionan los parámetros que componen los diferentes tipos de hemogramas, incluyendo entre paréntesis los códigos de la Sociedad Colombiana de Patología Clínica [7]:

- **Hemograma tipo I** (14700): hemoglobina, hematocrito, recuento de eritrocitos, índices eritrocitarios (volumen corpuscular medio, hemoglobina corpuscular media, concentración de la hemoglobina corpuscular media), recuento total de leucocitos, y recuento diferencial de leucocitos y morfología por métodos manuales. No incluye sedimentación.

- **Hemograma tipo II** (14800): hemoglobina, hematocrito, recuento de eritrocitos, índices eritrocitarios (volumen corpuscular medio, hemoglobina corpuscular media, concentración de la hemoglobina corpuscular media), recuento total de leucocitos, recuento diferencial

de leucocitos, recuento de plaquetas y morfología por métodos manuales. No incluye sedimentación.

- **Hemograma tipo III** (14900): hemoglobina, hematocrito, recuento de eritrocitos, índices eritrocitarios (volumen corpuscular medio, hemoglobina corpuscular media, concentración de la hemoglobina corpuscular media), recuento total de leucocitos, y recuento diferencial de leucocitos, recuento de plaquetas por métodos semiautomáticos y morfología por métodos manuales. No incluye sedimentación.
- **Hemograma tipo IV** (1500): hemoglobina, hematocrito, recuento de eritrocitos, índices eritrocitarios (volumen corpuscular medio, hemoglobina corpuscular media, concentración de la hemoglobina corpuscular media), ancho de distribución de los eritrocitos, recuento total de leucocitos, recuento diferencial de leucocitos, recuento de plaquetas y morfología de sangre periférica por métodos electrónicos y manuales. No incluye sedimentación.
- **Hemograma tipo V** (15100): hemoglobina, hematocrito, recuento de eritrocitos, índices eritrocitarios (volumen corpuscular medio, hemoglobina corpuscular media, concentración de la hemoglobina corpuscular media), ancho de distribución de los eritrocitos, recuento total de leucocitos, recuento diferencial de leucocitos, recuento de plaquetas, índices plaquetarios (volumen medio plaquetario, ancho de distribución de las plaquetas, plaquetocrito) y morfología de sangre periférica por métodos electrónicos y manuales. No incluye sedimentación.
- **Hemograma tipo VI** (15150): hemoglobina, hematocrito, recuento de eritrocitos, índices eritrocitarios (volumen corpuscular medio, hemoglobina corpuscular media, concentración de la hemoglobina corpuscular media), ancho de distribución de los eritrocitos, recuento de reticulocitos, índices reticulocitarios, hemoglobina reticulocitaria, recuento total de leucocitos, recuento diferencial de leucocitos, recuento de plaquetas, índices plaquetarios (volumen medio plaquetario, ancho de distribución de las plaquetas, plaquetocrito), plaquetas reticuladas y morfología de sangre periférica por métodos electrónicos y manuales. No incluye sedimentación

El hemograma como prueba integral está compuesto por tres grupos de parámetros, a saber: el eritrograma, el leucograma y el trombograma y en este orden serán analizados.

Eritrograma

Se define como el análisis cuantitativo y cualitativo de los parámetros relacionados con los eritrocitos en sangre periférica. Del eritrograma hacen parte los parámetros convencionales como el recuento de eritrocitos, la hemoglobina, el hematocrito y los índices eritrocitarios y los nuevos parámetros, derivados de la incorporación de los autoanalizadores de hematología al laboratorio clínico, como el ancho de distribución de los eritrocitos, el ancho de distribución de la hemoglobina, el recuento de reticulocitos, incluidos los nuevos parámetros con ellos relacionados, y la hemoglobina reticulocitaria, que serán analizados en los siguientes subtítulos. Además de los parámetros cuantitativos, también hacen parte integral del eritrograma el estudio de la morfología de los eritrocitos en extendidos de sangre periférica, que, junto a la morfología de leucocitos y plaquetas, se analizarán en un próximo módulo.

Recuento de eritrocitos

Consiste en determinar la cantidad de eritrocitos en sangre periférica por unidad de volumen por microlitro (µL), milímetro cúbico (mm^3) o litro (L) de acuerdo con el sistema de unidades adoptado en el laboratorio clínico o en la región. Desde el punto de vista de la metodología disponible en el laboratorio clínico, el recuento de eritrocitos puede ser manual o electrónico.

Figura 2. Pipeta de dilución para glóbulos rojos y plaquetas.

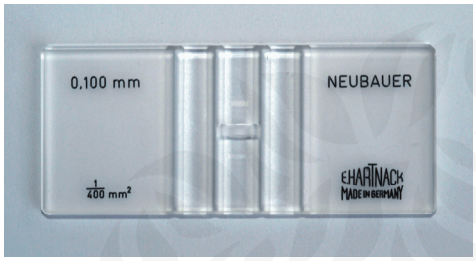

Figura 3. Cámara de Neubauer.

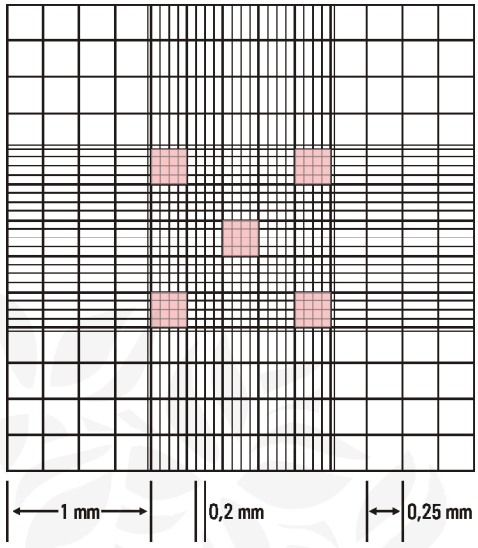

Figura 4. Detalle de la cámara de Neubauer. El área total de la cámara es de 3x3 mm, con 9 cuadrados grandes. Los eritrocitos se cuentan en los 5 cuadrados coloreados.

Recuento manual

El recuento manual de eritrocitos se utiliza en los hemogramas tipo I y tipo II definidos por la Sociedad Colombiana de Patología Clínica [7] y el Ministerio de la Protección Social de Colombia [8]. Para hacer el recuento de eritrocitos por método manual se requiere pipeta de dilución para glóbulos rojos como se muestra en la **figura 2** y cámara de Neubauer que se muestran en las **figuras 3** y **4**, y un microscopio convencional [11-13]. El recuento manual de eritrocitos es un procedimiento tedioso, de alto consumo de tiempo del profesional, 6 a 8 minutos en promedio, de acuerdo con el Colegio Americano de Patólogos (CAP) [10] y a pesar de que se haga con las mejores especificaciones metodológicas tiene un coeficiente de variación muy amplio (10% a 22%) [14], por lo cual esta tecnología prácticamente ha desaparecido de los laboratorios clínicos al ser reemplazada por los contadores de células o autoanalizadores de hematología. Además, como consecuencia de lo anterior, los parámetros que de él dependen, en particular el volumen corpuscular medio, indispensable en la clasificación morfológica de las anemias de acuerdo con los criterios de Wintrobe [15], no son confiables y en estas circunstancias es mejor no ofertarlo.

Recuento electrónico

La medida del número de células, ya sea eritrocitos, leucocitos o plaquetas, en la mayoría de los autoanalizadores de hematología suele realizarse simultáneamente con el tamaño de las células y para ello aprovechan las variaciones que se presentan en un campo electromagnético en el cual se suspenden las células objeto del estudio. Desde el punto de vista tecnológico, la mayoría de los recuentos electrónicos de eritrocitos, así como el recuento total de leucocitos y de plaquetas se hace utilizando la impedancia eléctrica [13].

Impedancia eléctrica

También conocida como principio Coulter, en honor al ingeniero Wallece Henry Coulter quien lo describió en 1956 [16], no sólo revolucionó la hematología sino que inició la era de los autoanalizadores de hematología, con excelente eficiencia analítica (precisión y exactitud), y ha aportado nuevos parámetros de utilidad clínica. El método se basa en la resistencia que presentan las células, que no son conductoras eléctricas, al paso de la corriente eléctrica cuando

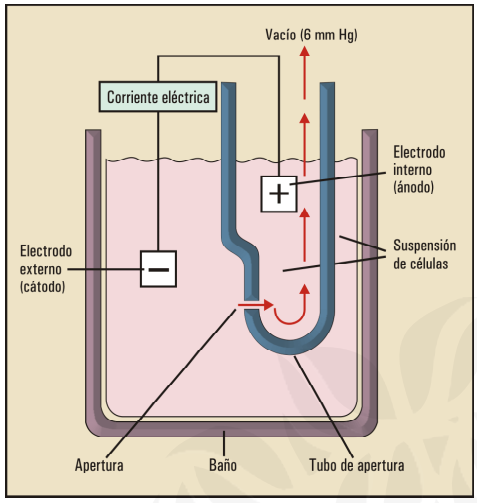

Figura 5. Principio de impedancia. La célula al pasar por el orificio o tubo de apertura interrumpe momentáneamente la corriente eléctrica entre el ánodo y el cátodo. El número de interrupciones (caídas de voltaje) es proporcional al número de partículas, que en el caso del eritrograma corresponde a eritrocitos, y la intensidad del voltaje es proporcional al tamaño de las mismas, que en el caso de los eritrocitos corresponde al volumen corpuscular medio. Tomado de **Campuzano-Maya G**. El hemograma electrónico. Laboratorio al Día 1995; 5: 28-41 [17].

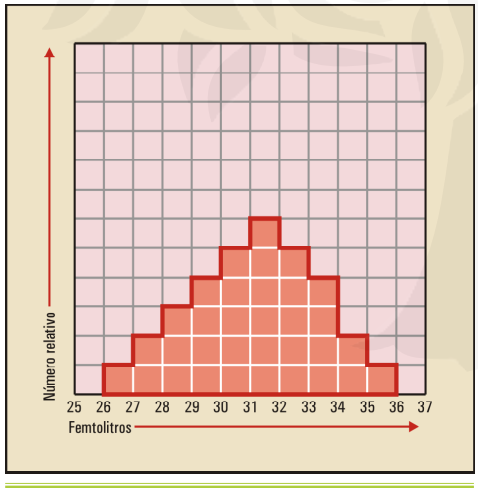

Figura 7. Diagrama que muestra cómo se construye un histograma de volúmenes para el recuento de células. Tomado de **Campuzano-Maya G**. El hemograma electrónico. Laboratorio al Día 1995; 5: 28-41 [17].

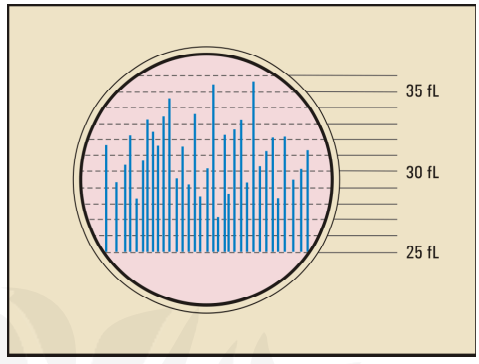

Figura 6. Osciloscopio que muestra la frecuencia y el tamaño de los pulsos durante el recuento de células. Tomado de **Campuzano-Maya G**. El hemograma electrónico. Laboratorio al Día 1995; 5: 28-41 [17].

atraviesan un pequeño orificio, conocido como «orificio de apertura» que separa dos medios con diferente potencial, como se esquematiza en la **figura 5** [16]. Cada vez que una célula atraviesa el orificio de apertura se presenta un cambio en la resistencia eléctrica que el instrumento interpreta como un impulso que es proporcional al volumen del líquido electrolítico desplazado. Bajo estas circunstancias, los impulsos representan el tamaño o volumen de las células y el número de células que atraviesan el orificio de apertura es proporcional a su concentración en el medio electrolítico.

Mediante la computadora incorporada al equipo, con el número y el tamaño de los pulsos se construye un histograma conocido como histograma de volúmenes. El número de pulsos determina el número células de acuerdo con la dilución de éstas en la solución conductora; a su vez, la intensidad de los pulsos determina el tamaño de las células. La distribución y el tamaño de los mismos identifica las poblaciones celulares y los coeficientes de variación de cada una de ellas en el histograma [17]. En la **figura 6** se esquematiza el osciloscopio y en la **figura 7** el concepto del histograma de volúmenes generados por los pulsos del osciloscopio.

En los hemogramas tipo III, los resultados de la impedancia de los eritrocitos aparecen en pantalla o se imprimen en una tarjeta para ser entregada como resultado del hemograma. La mayoría de estos instrumentos están fuera de uso, ya sea por falta de mantenimiento o por

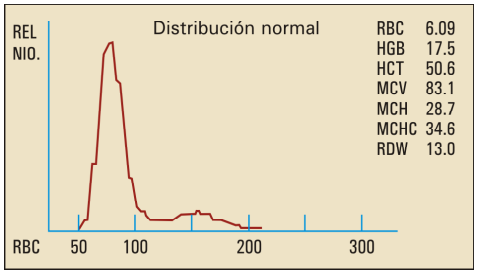

Figura 8. Histograma de eritrocitos en el hemograma tipo IV y V, obtenido por el principio de impedancia. A la izquierda se observa el cuerpo del histograma y a la derecha el dedo del histograma. En el extremo derecho están los parámetros del eritrograma como los reporta el instrumento: RBC (*red cell count*) por el recuento de eritrocitos en millones por µL, HGB (*hemoglobin*) por hemoglobina en g/dL, HCT (*hematocrit*) por hematocrito en %, MCV (*mean corpuscular volume*) por volumen corpuscular medio en fL, MCH (*mean corpuscular hemoglobin*) por hemoglobina corpuscular media en pg, MCHC (*mean corpuscular hemoglobin concentration*) por concentración de la hemoglobina corpuscular media en g/dL y RDW (*red cell distribution width*) por ancho de distribución de los eritrocitos en %.

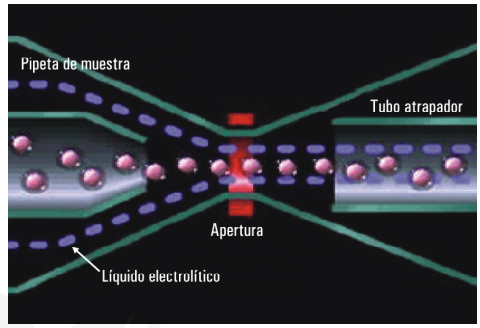

Figura 9. Enfoque hidrodinámico. La presión del líquido electrolítico al pasar por el orificio de apertura «obliga» a las células a fluir de una en una frente al haz lumínico.

haber sido desplazados por instrumentos de mayor eficiencia.

En los hemogramas tipo IV y V, los resultados se muestran como un histograma conocido como histograma de eritrocitos que, como se observa en la **figura 8**, está compuesto por dos partes: el cuerpo que representa la mayor proporción del histograma e identifica la población de eritrocitos entre 50 y 130 fL con una distribución gaussiana, y una segunda población, más pequeña, que aparece a la derecha de la población principal, conocida como «dedo del histograma», entre 130 y 185 fL, que en la práctica se presenta por eritrocitos aglutinados o que se superponen al pasar por el orificio de apertura o por artefactos [17].

Gracias a la incorporación de alta tecnología, en los hemogramas tipo VI, el enfoque hidrodinámico, que se esquematiza en la **figura 9**, «obliga» a las células a fluir hacia de región en donde son analizadas con una trayectoria bien definida, como una hilera perfecta, estrecha y estable de células embebidas en el líquido electrolítico, que permite tener un histograma con distribución gaussiana, en el cual han desaparecido el «dedo del histograma» y las interferencias con él relacionadas, como se observa el la **figura 10**.

El laboratorio clínico, mediante el análisis del histograma de eritrocitos, como se muestra en las **figuras 10** a **12,** permite visualizar la población de eritrocitos normocíticos, microcíticos, y macrocíticos, respectivamente. Adicionalmente, es posible evidenciar la presencia de varias poblaciones celulares que el laboratorio al momento de informar el estudio, debe describir especificando la media en fL, de cada una de ellas. Esta situación es frecuente en pacientes postransfundidos y en pacientes que están recibiendo terapia con hematínicos en la fase de recuperación, en donde coexisten dos poblaciones de eritrocitos: los del paciente y los del donante en el primer caso (ver **figura 13**), o los viejos y los nuevos en el segundo caso (ver **figura 14**).

Valores de referencia

En la **tabla 1** se presentan los valores de referencia para el recuento de eritrocitos en una entidad privada de Medellín, Colombia [18]. Debe insistirse en que cada laboratorio clínico debe definir sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población, la instrumentación

Tabla 1. Valores de referencia para el recuento de eritrocitos en una entidad privada de Medellín, Colombia [18].

Edad y género	Valores esperados
1 a 15 días	6,5 a 7,3 millones por µL
16 a 31 días	4,3 a 5,2 millones por µL
1 a 12 meses	4,1 a 5,1 millones por µL
1 a 5 años	4,2 a 5,2 millones por µL
6 a 14 años	4,2 a 5,3 millones por µL
15 a 99 años (mujeres)	4,2 a 5,4 millones por µL
15 a 99 años (hombres)	4,6 a 6,2 millones por µL

y la altura sobre el nivel del mar, factores que modifican los parámetros de un lugar a otro y de una institución a otra [19].

Utilidad clínica

Gracias a la automatización, el recuento de eritrocitos que había desaparecido por razones previamente analizadas, fue recuperado tras la introducción de los autoanalizadores de hematología a los laboratorios clínicos de la mayoría de las instituciones de salud del país. De los parámetros cuantitativos del eritrograma, el recuento de eritrocitos es uno de los que menor aplicación clínica tiene, pero es indispensable para calcular el volumen corpuscular medio en los hemogramas manuales del tipo I y II [7], que es la base de la clasificación morfológica de las anemias según Wintrobe [15]. El recuento de eritrocitos también es necesario para determinar algunos de los nuevos parámetros de los hemogramas derivados de los autoanalizadores de hematología, como el ancho de distribución de los eritrocitos, de utilidad en la clasificación morfológica de las anemias según Bessman [20].

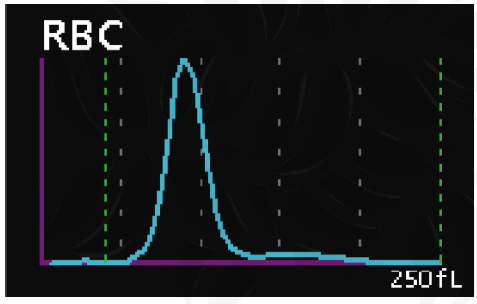

Figura 10. Histograma de eritrocitos en el hemograma tipo VI, de un paciente normal. Nótese que ha desaparecido el «dedo del histograma».

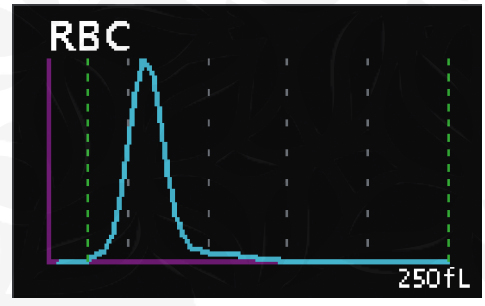

Figura 11. Histograma de eritrocitos de un paciente con microcitosis.

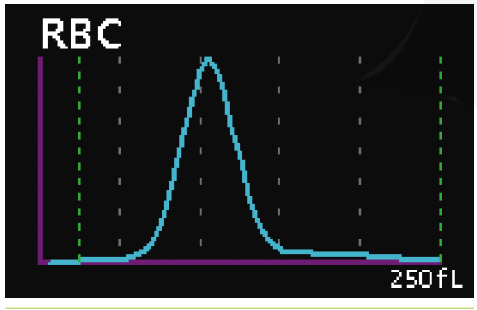

Figura 12. Histograma de eritrocitos de un paciente con macrocitosis.

Observaciones

El recuento de eritrocitos por métodos manuales, por los motivos antes citados y en particular por la falta de precisión, con un coeficiente de variación, bajo las mejores condiciones analíticas de la prueba, entre el 10% y el 22% [14], no es costo-eficiente y en consecuencia debería pasar a ser una prueba histórica, lejos de los portafolios de servicios de los laboratorios clínicos y de los manuales de procedimientos en salud, para dar paso a los sistemas electrónicos, basados en la impedancia y el láser óptico como garantía de eficiencia analítica.

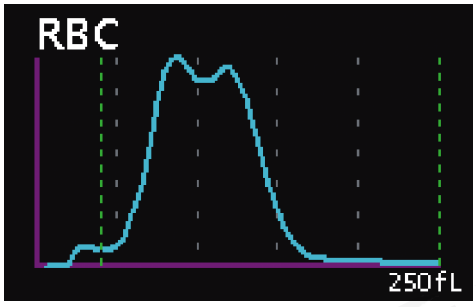

Figura 13. Histograma de eritrocitos de un paciente postransfundido.

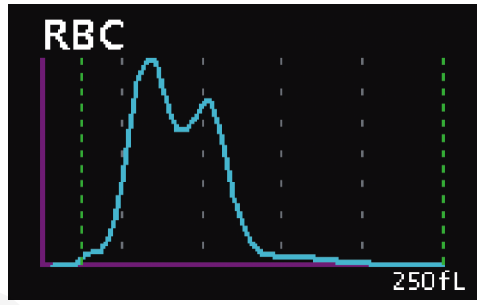

Figura 14. Histograma de un paciente que está recibiendo terapia con hematínicos.

Cuando el recuento de eritrocitos se hace por métodos electrónicos, con un coeficiente de variación inferior a 1% en la mayoría de los autoanalizadores de hematología disponibles en el mercado de la instrumentación para laboratorios clínicos, puede tener valores falsos cuando los reactivos que se utilizan no son los adecuados para el instrumento, cuando se utilizan reactivos «caseros» o adaptados de una marca para otra marca o los llamados «reactivos universales» [13] que con el argumento de reducir los costos o por falta de presupuesto o por falta de cultura de la calidad, no se llevan programas de control de calidad acordes con las necesidades de esta tecnología, como infortunadamente sucede en nuestro medio con relativa frecuencia.

En presencia de crioaglutininas el recuento electrónico de eritrocitos puede dar un resultado falsamente bajo, situación que también afecta el volumen corpuscular medio y la hemoglobina corpuscular media.

Hematocrito

El hematocrito representa la fracción de volumen eritrocitario y corresponde al volumen ocupado por los glóbulos rojos en relación con el volumen total de sangre [12]. De acuerdo con el tipo de hemograma, el hematocrito se puede hacer por método manual, en los hemogramas tipo I y II, o por cálculo, en los hemogramas tipo III, IV, V y VI [7, 8, 21]. El hematocrito se expresa de acuerdo con la nomenclatura tradicional como un porcentaje, o preferiblemente, de acuerdo al Sistema Internacional (SI) de unidades recomendado por el ICSH (*International Council for Standardization in Haematology*), como una fracción decimal en donde la unidad (L/L) está implícita. Aunque el concepto no difiere por la metodología utilizada, hay diferencias, que aunque sutiles algunas de ellas, es importante conocerlas al momento de interpretar la prueba.

Hematocrito manual

En los hemogramas tipos I y II, el hematocrito se obtiene mediante centrifugación en tubos de Wintrobe siguiendo el método originalmente descrito en 1929, conocido como macrométodo [22] y muy poco utilizado en la actualidad (ver **figura 15**), o mediante la metodología conocida como «microhematocrito», utilizando microcentrífuga y capilares especialmente diseñados para la prueba, como se muestra en las **figuras 16** a **18**, estandarizados de acuerdo con el Comité Internacional de Estandarización en Hematología y el Comité Nacional para los

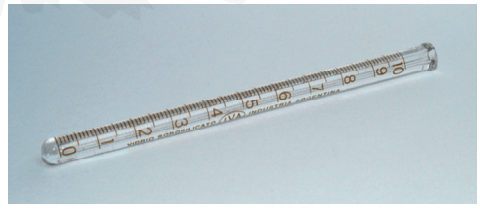

Figura 15. Tubo de Wintrobe para la determinación del (macro)hematocrito.

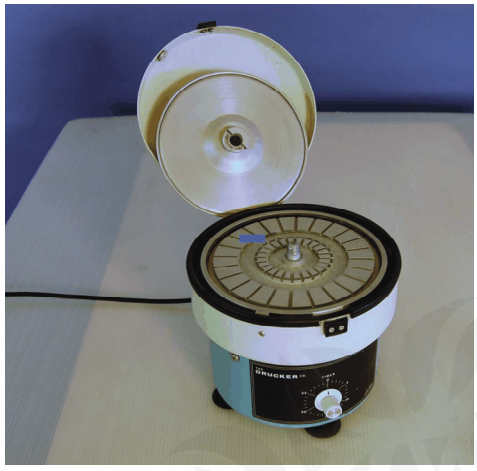

Figura 16. Microcentrífuga utilizada para la determinación del microhematocrito.

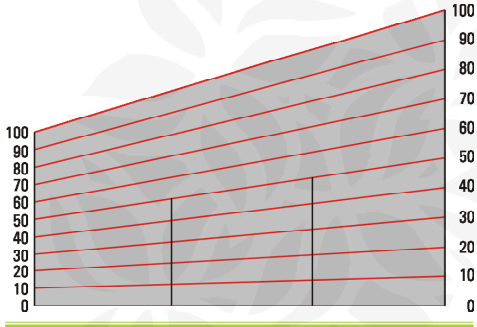

Figura 17. Carta de lectura del microhematocrito.

Estándares en la Clínica y en el Laboratorio [23].

El microhematocrito tiene un nivel de exactitud y precisión adecuada para uso clínico [24], de ahí que en la práctica es de utilidad cuando se desea tamizar en la población general, por ejemplo en las campañas de banco de sangre, alteraciones del eritrograma que permiten identificar pacientes con anemia que contraindicarían la donación.

Hematocrito electrónico

A diferencia del hematocrito convencional o manual, que es una medida directa e independiente, el hematocrito electrónico se obtiene mediante un cálculo matemático que relaciona el recuento de eritrocitos y el volumen corpuscular medio determinados por el autoanalizador de hematología, aplicando la siguiente fórmula:

Hematocrito = recuento de eritrocitos x volumen corpuscular medio ÷ 10

El hematocrito electrónico, también conocido como «hematocrito verdadero», a diferencia del hematocrito manual, no tiene plasma atrapado entre las células después de ser centrifugadas, y es así como su valor es de 2% a 3% más bajo que el hematocrito manual [25, 26], situación que también afectaría los índices eritrocitarios [25], en particular la concentración de la hemoglobina corpuscular media que depende del hematocrito. El hematocrito manual se puede convertir al hematocrito electrónico multiplicándolo por 0,984 [12]. Esta diferencia por plasma atrapado del hematocrito manual *versus* el hematocrito electrónico es mayor en los pacientes con anemia macrocítica [27], esferocitosis hereditaria, síndromes talasémicos, anemias hipocrómicas o anemia falciforme [26], en donde puede llegar hasta el 20% [27].

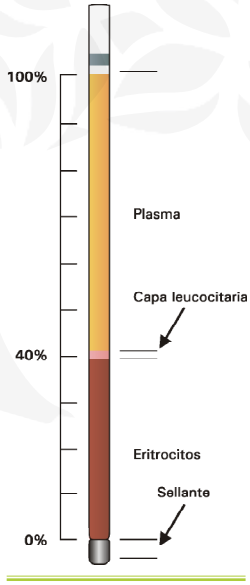

Figura 18. Microhematocrito con sangre periférica después de ser centrifugado.

Dos de los autoanalizadores de hematología disponibles comercialmente, Sysmex® XE-2100, por ejemplo [28] y ABX® Pentra 120, por ejemplo [29], determinan el hematocrito como un valor medido sumando el volumen de los eritrocitos contados y no aplicando la formula que relaciona el recuento de eritrocitos y el volumen corpuscular medio como lo hacen los demás instrumentos.

Valores de referencia

En la **tabla 2** se presentan los valores de referencia para el hematocrito en una entidad privada de Medellín, Colombia [18]. Debe

insistirse en que cada laboratorio clínico debe definir sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población, la instrumentación y la altura sobre el nivel del mar que pueden modificar los parámetros de un lugar a otro y de una institución a otra [19].

Tabla 2. Valores de referencia para el hematocrito en una entidad privada de Medellín, Colombia [18].

Edad y género	Valores esperados
1 a 15 días	44,0 a 64,0%
16 a 31 días	45,0 a 50,0%
1 a 12 meses	34,0 a 38,0%
1 a 5 años	33,0 a 41,0%
6 a 14 años	34,0 a 43,0%
15 a 99 años (mujeres)	38,0 a 48,0%
15 a 99 años (hombres)	40,0 a 54,0%

Utilidad clínica

El hematocrito define el concepto de poliglobulia como un aumento de la masa de eritrocitos, cuando el hematocrito está por encima de los valores esperados para la población de acuerdo con el género y la edad. El hematocrito se relaciona directamente con la concentración de hemoglobina por lo que su medida constituye un procedimiento adicional para el diagnóstico de anemia, de utilidad en programas de tamización como realmente se utiliza en las campañas de recolección de sangre en los bancos de sangre.

Observaciones

Es importante enfatizar que el hematocrito refleja la concentración de los eritrocitos pero no la masa total de éstos. El verdadero valor del hematocrito para la detección de anemia depende en gran medida de que el volumen plasmático sea real; así, un descenso del volumen plasmático (hemoconcentración) como el que se observa en casos de deshidratación, se traducirá en un aumento relativo del hematocrito y de la hemoglobina, en tanto que un aumento del volumen plasmático (hemodilución) producirá una falsa disminución del hematocrito y de la hemoglobina, resultando en un posible diagnóstico erróneo de anemia [30]. También se debe recordar que cuando el hematocrito se hace de sangre obtenida por punción capilar puede ser un poco mayor al de sangre obtenida por punción venosa [12].

El microhematocrito se puede afectar cuando los tubos capilares utilizados son diferentes a los definidos por estándares internacionales para hacer la prueba [24], como frecuentemente se hace en el medio con el argumento de reducir costos, también cuando hay mala oxigenación de la sangre [31] y cuando la muestra no se procesa dentro de las 6 primeras horas de haberse tomado dando como resultado el aumento espurio (falso) del tamaño de los eritrocitos [13]. Cuando el hematocrito está afectado, los índices corpusculares que de él dependen, como el volumen corpuscular medio y la concentración de la hemoglobina corpuscular media, punto de partida de la clasificación morfológica de las anemias según Wintrobe [15], se pueden ver seriamente afectados y en consecuencia la clasificación morfológica de la anemia termina siendo inadecuada.

Hemoglobina

Los eritrocitos contienen una mezcla de hemoglobina, oxihemoglobina, carboxihemoglobina, metahemoglobina y cantidades mínimas de otras formas de hemoglobina menores [12]. Cuando se mide la hemoglobina se está determinando la suma de todas estas formas y para hacerlo los eritrocitos que la contienen deben ser lisados convirtiéndosen todas estas formas, excepto la sulfahemoglobina, en un compuesto estable, conocido como cianometahemoglobina, que puede ser medido en un espectrómetro a 540 nm [32, 33], ya sea por métodos manuales o por tecnología automática incorporada a los autoanalizadores de hematología conocidos como hemoglobinometros [34].

Figura 19. Pipeta de Sahli para la determinación de la hemoglobina por el método manual.

Método manual

Para determinar la hemoglobina por método manual se requiere la pipeta de Sahli, que se muestra en la **figura 19**, solución de Drabkin y espectrómetro que permita medir los cambios de color que se presentan tras la reacción bioquímica [33].

Método automatizado

Los autoanalizadores de hematología determinan la hemoglobina con la misma fundamentación del método manual, la cianometahemoglobina, utilizando un hemoglobinometro incorporado al instrumento. En algunos de los autoanalizadores de hematología de cuarta generación, acorde con las corrientes actuales, preocupadas por el medio ambiente y la salud ocupacional, con el conocimiento de que la hemoglobina por el método convencional de la cianometahemoglobina es una técnica «sucia» que utiliza cianuro que aparte del peligro contamina el medio ambiente, los autoanalizadores de hematología de cuarta generación como los de la marca Sysmex® han incorporado a los instrumentos otro tipo de hemoglobinometro que en vez de cianometahemoglobina utiliza lauril sulfato sódico, una sustancia atóxica tanto para el medio ambiente como para el personal del laboratorio clínico. Una parte de la sangre aspirada es diluida en un agente lisante, el lauril sulfato de sodio, que transforma la hemoglobina en lauril sulfato de sodio-metahemoglobina (metahemoglobina sódica de lauril sulfato) que tiene un pico de máxima absorción a 555 nm, que es medido por el hemoglobinometro incorporado al autoanalizador de hematología [35].

Valores de referencia

En la **tabla 3** se presentan los valores de referencia para la hemoglobina en una entidad privada de Medellín, Colombia [18]. Debe insistirse en que cada laboratorio clínico debe definir sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población, la instrumentación y la altura sobre el nivel del mar que pueden modificar los parámetros de un lugar a otro y de una institución a otra [19].

Utilidad clínica

La hemoglobina es el parámetro más importante del eritrograma y posiblemente del hemograma. Desde el punto de vista clínico, la hemoglobina define los conceptos de anemia y policitemia.

La hemoglobina es la proteína transportadora de oxígeno. Representa hasta el 32% de la masa total del eritrocito. La hemoglobina es el mejor índice para medir la capacidad transportadora de gases, tanto para oxígeno (O_2) como para dióxido de carbono (CO_2) por parte del eritrocito. La hemoglobina al igual que el hematocrito representan en forma indirecta el número de eritrocitos. Desde el punto de vista de la evaluación de la integridad hematológica, la determinación de la hemoglobina es superior a la del hematocrito y a la del recuento de eritrocitos [12]. Las enfermedades relacionadas con los eritrocitos, especialmente los síndromes anémicos, están definidas y se clasifican por la concentración de la hemoglobina.

Observaciones

La hemoglobina puede elevarse falsamente cuando la muestra es hiperlipémica, especialmente cuando hay quilomicronemia [36], o con leucocitosis importante, o presencia de paraproteínas en la sangre [37] y en algunas hemoglobinopatías como la anemia falciforme. Al mismo tiempo, al tener un valor erróneo de hemoglobina, se modifican los promedios corpusculares relacionados con ella, como son la hemoglobina corpuscular media y la concentración de la

hemoglobina corpuscular media [38], situación que se minimiza cuando se utiliza laurilsulfato de sodio.

Índices corpusculares

Descritos por Wintrobe en 1932 [39], por lo que también se les conoce como promedios de Wintrobe, determinan el tamaño y el contenido de hemoglobina de los eritrocitos, bajo los conceptos del volumen corpuscular medio, de la hemoglobina corpuscular media y de la concentración de la hemoglobina corpuscular media. Los promedios corpusculares por muchos años han sido el punto de partida para la clasificación morfológica de las anemias según Wintrobe [15] y más recientemente según Bessman [20]. Como sucede con los parámetros hasta ahora analizados, los índices corpusculares se pueden derivar de métodos manuales o de métodos electrónicos como se analizará a continuación.

Tabla 3. Valores de referencia para la hemoglobina en una entidad privada de Medellín, Colombia [18].

Edad y género	Valores esperados
1 a 15 días	16,2 a 24,0 g/dL
16 a 31 días	14,0 a 17,0 g/dL
1 a 12 meses	9,0 a 14,6 g/dL
1 a 5 años	9,6 a 15,5 g/dL
6 a 14 años	10,0 a 15,5 g/dL
15 a 99 años (mujeres)	12,0 a 16,0 g/dL
15 a 99 años (hombres)	13,5 a 18,0 g/dL

Volumen corpuscular medio

También conocido como promedio volumen corpuscular, volumen medio corpuscular, define, en fL como unidad de volumen, el tamaño de los eritrocitos [17]. El volumen corpuscular medio se puede obtener a partir de métodos manuales o métodos electrónicos, mediante la utilización de los autoanalizadores de hematología.

Método manual

Como se ha expresado, el volumen corpuscular medio en los hemogramas tipo I y II es un parámetro calculado que se obtiene de la relación del hematocrito por centrifugación y del recuento manual de eritrocitos, mediante la aplicación de la siguiente fórmula:

$$\text{Volumen corpuscular medio (fL)} = (\text{hematocrito} \div \text{recuento de eritrocitos en millones por } \mu\text{L}) \times 10$$

Método electrónico

El volumen corpuscular medio en los hemogramas tipo III, IV, V y VI es un parámetro que se determina de acuerdo con la amplitud de los pulsos generados durante el recuento de eritrocitos tras la medición, por triplicado, de más de 70.000 células [17]. La medición por estos métodos tiene un coeficiente de variación menor de 1% [12]. El volumen corpuscular medio de los autoanalizadores de hematología de cuarta generación de Sysmex® [28] y ABX® [29], debido a que determinan el hematocrito en forma directa, es un parámetro calculado derivado de la fórmula convencional expresada anteriormente.

Valores de referencia

En la **tabla 4** se presentan los valores de referencia para el volumen corpuscular medio en una entidad privada de Medellín, Colombia [18]. Debe insistirse en que cada laboratorio clínico debe definir sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población, la instrumentación y la altura sobre el nivel del mar que pueden modificar los parámetros de un lugar a otro y de una institución a otra [19].

Tabla 4. Valores de referencia para el volumen corpuscular medio en una entidad privada de Medellín, Colombia [18].

Edad y género	Valores esperados
1 a 15 días	97.0 a 119.0 fL
16 a 31 días	82.0 a 100.0 fL
1 a 12 meses	70.0 a 84.0 fL
1 a 5 años	72.0 a 88.0 fL
6 a 14 años	72.0 a 92.0 fL
Mayores de 15 años	86.0 a 96.0 fL

Utilidad clínica

Del volumen corpuscular medio se derivan los conceptos de normocitosis, microcitosis y macrocitosis, para referirse a eritrocitos de tamaño normal, pequeños o grandes, respectivamente, punto de partida de las dos clasificaciones morfológicas más importantes de las anemias: la de Wintrobe [15] y la de Bessman [20], de ahí la importancia de la calidad (exactitud y precisión) de la medición. El volumen corpuscular medio es el parámetro del hemograma que tiene mayor estabilidad en el paciente y es así como cualquier modificación, con el mismo instrumento y en el mismo laboratorio, superior a 5 fL es significativa, aun en ausencia de anemia u otros hallazgos en la sangre, y justifica plenamente los estudios complementarios [40].

Observaciones

El volumen corpuscular medio cuando se deriva de parámetros manuales no es confiable, porque depende del recuento de eritrocitos que por métodos manuales tiene un coeficiente de variación muy alto (>5%) [41], situación que podría originar estudios innecesarios y pérdida de oportunidad en el diagnóstico [21]. A pesar de que la medición del volumen corpuscular medio por métodos electrónicos es muy exacta, vale la pena conocer algunos aspectos tecnológicos que pueden incidir en la calidad del parámetro. El volumen corpuscular medio electrónico es un poco más bajo que el establecido por métodos manuales, debido a que el hematocrito en este último es mayor que el electrónico como resultado del plasma atrapado [27]. También se debe tener presente que el volumen corpuscular medio determinado por dispersión óptica tiende a ser más alto que el obtenido por impedancia óptica. Si hay crioaglutininas, los eritrocitos aglutinados «engañan» al autoanalizador de hematología que los cuenta como una célula única de mayor tamaño [42], situación que lo eleva falsamente (seudomacrocitosis) con disminución espuria en el recuento de eritrocitos, afectando de paso el hematocrito, la concentración media de hemoglobina corpuscular y la hemoglobina corpuscular media que dependen del volumen corpuscular medio, el primero y el segundo, y del recuento de eritrocitos, el tercero [30]. Además, el volumen corpuscular medio puede elevarse falsamente (seudomacrocitosis) en pacientes con hiperglicemia importante, usualmente por encima de 600 mg/dL [43, 44], alterando espuriamente otros parámetros como el hematocrito (falso aumento) y la concentración media de hemoglobina corpuscular (falsa disminución) [45-47].

Además de la ferropenia, otra de las causas de disminución del volumen corpuscular medio y de la concentración de la hemoglobina corpuscular media en la cual poco se piensa al momento del diagnóstico diferencial, es la deficiencia de la vitamina A [48], especialmente cuando se asocia con ferropenia [49]. En períodos de crisis en pacientes con hemoglobinopatías SS y SC, debido a procesos de deshidratación, el volumen corpuscular medio puede disminuir entre 10 y 15 fL [50, 51].

Hemoglobina corpuscular media

También conocida como promedio de hemoglobina corpuscular, representa la cantidad de hemoglobina, en picogramos (pg) como unidad de peso, presente en cada eritrocito. La hemoglobina corpuscular media se obtiene mediante la fórmula que relaciona la hemoglobina con el recuento de eritrocitos, ya sea de parámetros derivados de métodos manuales o electrónicos mediante la computadora incorporada al autoanalizador de hematología, aplicando la siguiente fórmula:

Hemoglobina corpuscular media (pg) = (hemoglobina en g/dL ÷ recuento de eritrocitos en millones por μL) x 10

Valores de referencia

En la **tabla 5** se presentan los valores de referencia para la hemoglobina corpuscular media en una entidad privada de Medellín, Colombia [18]. Debe insistirse en que cada laboratorio clínico debe definir sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población, la instrumentación y la altura sobre el nivel del mar que pueden modificar los parámetros de un lugar a otro y de una institución a otra [19].

Tabla 5. Valores de referencia para la hemoglobina corpuscular media en una entidad privada de Medellín, Colombia [18].

Grupos de edad	Valores esperados
1 a 15 días	32.0 a 44.0 pg
16 a 31 días	31.0 a 39.0 pg
1 a 12 meses	22.0 a 29.0 pg
1 a 5 años	23.0 a 31.0 pg
6 a 14 años	23.0 a 31.0 pg
Mayores de 15 años	25.0 a 31 pg

Utilidad clínica

La hemoglobina corpuscular media define los conceptos de hipocromía, normocromía e hipercromía. La hemoglobina corpuscular media, combinada con el volumen corpuscular medio, permite desarrollar la clasificación morfológica de acuerdo con Wintrobe [15]. La hemoglobina corpuscular media es confiable y por lo tanto aplicable a la clínica cuando se deriva de valores obtenidos mediante los contadores de células. Además de la utilidad clínica de la hemoglobina corpuscular media, e igual que la concentración de la hemoglobina corpuscular media, debido a que es un parámetro muy estable, es una excelente herramienta para el control de calidad del hemograma [52].

Observaciones

A pesar de que la hemoglobina corpuscular media es un parámetro derivado de aplicar una fórmula en todos los tipos de hemograma, cuando el recuento de eritrocitos se hace manual, como en los hemogramas tipo I y II, aunque se haga bajo las más estrictas normas de calidad, tiene un coeficiente de variación muy alto por la imprecisión característica del recuento manual de eritrocitos [14], en tanto que en los hemogramas derivados de los autoanalizadores de hematología es de altísima confiabilidad, debido a que el recuento electrónico de eritrocitos por esta metodología tiene un coeficiente de variación por debajo del 1% [53], razón más para retirar de los portafolios de los laboratorios clínicos los hemogramas manuales. La hemoglobina corpuscular media se puede elevar falsamente por hiperlipidemia como resultado de una elevación espuria de la hemoglobina debida a la turbidez del plasma [36]. También puede modificarse en otras situaciones que elevan la hemoglobina falsamente, como la presencia de paraproteínas [37].

Concentración media de hemoglobina corpuscular

También conocida como concentración de la hemoglobina corpuscular media, se define como la cantidad de hemoglobina expresada en g/dL de células rojas empacadas. En todos los hemogramas se obtiene ya sea manualmente o mediante la computadora incorporada al autoanalizador de hematología, aplicando la siguiente fórmula:

Concentración de la hemoglobina corpuscular media (g/dL) = (hemoglobina en g/dL ÷ hematocrito) x 100

Valores de referencia

En la **tabla 6** se presentan los valores de referencia para la concentración de la hemoglobina corpuscular media en una entidad privada de Medellín, Colombia [18]. Debe insistirse en que cada laboratorio clínico debe definir sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población, la instrumentación y la altura sobre el nivel del mar que pueden modificar los parámetros de un lugar a otro y de una institución a otra [19].

Tabla 6. Valores de referencia para la concentración de la hemoglobina corpuscular media en una entidad privada de Medellín, Colombia [18].

Edad y género	Valores esperados
1 a 15 días	34.0 a 42.0 g/dL
16 a 31 días	31.0 a 39.0 g/dL
1 a 12 meses	30.0 a 36.0 g/dL
1 a 5 años	31.0 a 37.0 g/dL
6 a 14 años	32.0 a 36.0 g/dL
Mayores de 15 años	32.0 a 38.0 g/dL

Utilidad clínica

La concentración de hemoglobina corpuscular media, de igual manera que la hemoglobina corpuscular media, también define los conceptos de hipocromía, normocromía e hipercromía, siendo este último un concepto hipotético, para referirse a la cantidad de hemoglobina por masa de eritrocitos. La concentración de la hemoglobina corpuscular media es necesaria para la clasificación de las anemias de acuerdo con la clasificación morfológica de Wintrobe [15].

Las anemias ferropénicas característicamente presentan disminución significativa de la concentración de la hemoglobina corpuscular media pero rara vez está disminuida cuando el volumen corpuscular medio es normal. La concentración de la hemoglobina corpuscular media característicamente está elevada en la esferocitosis hereditaria [54] y es así como la concentración de la hemoglobina corpuscular media, por encima de 35,4 g/dL, combinada con el ancho de distribución de los eritrocitos, mayor de 14%, tiene una sensibilidad de 63% y una especificidad de 100% para detectar la esferocitosis hereditaria como prueba de tamizaje en la población general [55]. Además de la utilidad clínica de la concentración de la hemoglobina corpuscular media, y al igual que la hemoglobina corpuscular media, debido a que es un parámetro muy estable, es una excelente herramienta para el control de calidad del hemograma [52]. Con la excepción de la esferocitosis hereditaria, en donde característicamente está elevada [54], y con algunas formas homocigotas de hemoglobinopatías S y C [50, 51], la concentración de la hemoglobina corpuscular media no debe exceder de 37 g/dL.

Observaciones

La concentración de la hemoglobina corpuscular media que se deriva de los hemogramas manuales (tipo I y tipo II) tiene un coeficiente de variación por encima de 10% debido al factor de error inducido en el recuento manual de eritrocitos [14], en tanto que con los métodos electrónicos éste está en 1% [12]. La concentración de la hemoglobina corpuscular media se puede elevar falsamente por hiperlipidemia como resultado de una elevación espuria de la hemoglobina debido a la turbidez del plasma [36]. También puede modificarse en otras situaciones que elevan la hemoglobina falsamente como la presencia de paraproteínas [37]. En períodos de crisis en pacientes con hemoglobinopatías SS y SC, debidos a procesos de deshidratación, la concentración de la hemoglobina corpuscular media puede aumentar significativamente, aun con valores por encima de 37 g/dL [50, 51].

Nuevos parámetros del eritrograma

La incorporación de los autoanalizadores de hematología a la rutina de los laboratorios clínicos, además de que recuperó la precisión y la exactitud de los parámetros convencionales, ha entregado a la comunidad médica nuevos parámetros de verdadera utilidad clínica, en particular el ancho de distribución de los eritrocitos, la hemoglobina reticulocitaria, el ancho de distribución de la hemoglobina y el recuento de reticulocitos, como se analizará a continuación.

Ancho de distribución de los eritrocitos

El ancho de distribución de los eritrocitos, también denominado RDW por *red cell distribution width* o índice de anisocitosis, es un parámetro exclusivo del hemograma electrónico y

representa el coeficiente de variación, expresado en porcentaje, del tamaño de los eritrocitos [56]. En la mayoría de los autoanalizadores de hematología, el ancho de distribución de los eritrocitos es calculado como un porcentaje de la variación de los tamaños de los eritrocitos en el histograma de volumen de rojos.

Los autoanalizadores de hematología Sysmex® obtienen dos tipos de ancho de distribución de los eritrocitos [28]:

- El coeficiente de variación del ancho de distribución de los eritrocitos (RDW-CV) que corresponde al concepto universal del parámetro, como se representa en la **figura 20A**, y
- La desviación estándar del ancho de distribución de los eritrocitos (RDW-SD), como un nuevo parámetro del eritrograma, que se representa en la **figura 20B** [57].

Valores de referencia

El valor de referencia para el coeficiente de variación del ancho de distribución de los eritrocitos es de 11,5% a 15,1% y para la desviación de estándar del ancho de distribución de los eritrocitos, oscila, en hombres entre 35,1 fL y 43,9 fL y en mujeres entre 36,4 fL y 46,3 fL, en una entidad privada de Medellín, Colombia [18]. Debe insistirse en que cada laboratorio clínico debe definir sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población, la instrumentación y la altura sobre el nivel del mar que pueden modificar los parámetros de un lugar a otro y de una institución a otra [19].

Utilidad clínica

El ancho de distribución de los eritrocitos es necesario para la clasificación morfológica de las anemias de acuerdo con la clasificación de Bessman [20]. En términos generales, la heterogeneidad del ancho de distribución de los eritrocitos está dando una señal al clínico de una enfermedad carencial, por ejemplo, la anemia ferropénica [20, 58-61] y la anemia megaloblástica [62], aun en ausencia de cambios significativos en el tamaño de los eritrocitos (volumen corpuscular medio) y en los índices de hemoglobina intracelular (hemoglobina corpuscular media y concentración de la hemoglobina corpuscular media) [60, 61]. El ancho

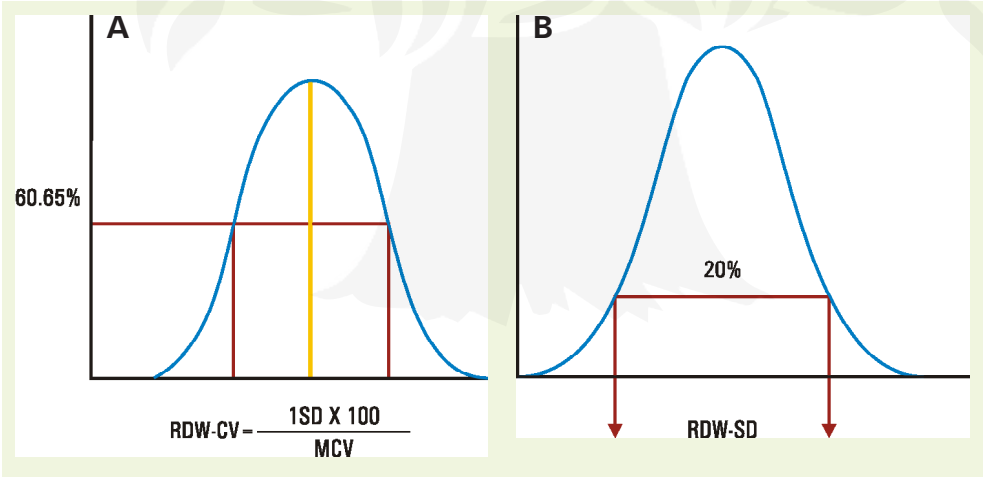

Figura 20. Ancho de distribución de los eritrocitos en el hemograma tipo VI (Sysmex®). Convenciones: RDW-CV: coeficiente de variación del ancho de distribución de los eritrocitos; RDW-SD: desviación estándar del ancho de distribución de los eritrocitos; MCV: volumen corpuscular medio.

de distribución de los eritrocitos es particularmente útil en el diagnóstico diferencial y en el manejo de las anemias microcíticas [20, 63-66].

Observaciones

Esta es otra prueba que sólo está disponible en los hemogramas tipo IV, V y VI que corresponden a aquellos que se hacen mediante los autoanalizadores de hematología [7]. Cuando el ancho de distribución de los eritrocitos se refiere al coeficiente de variación puede estar falsamente elevado o disminuido, dependiendo del volumen corpuscular medio, situación que no se presenta cuando el ancho de distribución de los eritrocitos se refiere a la desviación estándar, situación que amerita implementarlo en el medio.

Recuento de reticulocitos

Tradicionalmente el recuento de reticulocitos se ha considerado como un examen complementario que el médico y el laboratorio clínico solicitan y realizan como una prueba independiente del hemograma. Gracias a la tecnología incorporada a los autoanalizadores de hematología es posible integrar el recuento de reticulocitos, y otros nuevos parámetros de él derivados, al hemograma tipo VI.

Los reticulocitos son eritrocitos jóvenes que se diferencian de los eritrocitos maduros debido a que conservan en su citoplasma restos de ácido ribonucleico, ribosomas y mitocondrias que pueden ser identificados mediante diferentes colorantes [13]. La cantidad de reticulocitos en sangre indica la tasa de producción de eritrocitos en la medula ósea. Normalmente, los reticulocitos permanecen 2 a 3 días en la medula ósea y de 24 a 48 horas en la sangre periférica hasta cuando se completa su hemoglobinización y se tornan de aspecto maduro [12]. Los reticulocitos pueden ser determinados por método manual, por citometría de flujo y, más recientemente, en los autoanalizadores de hematología incorporados al hemograma como un parámetro más, específicamente los hemogramas de cuarta generación.

Recuento manual

El recuento manual consiste en contar los reticulocitos después de incubar la sangre en presencia de un colorante vital, por ejemplo el azul brillante de crecilo, en extendidos de sangre periférica mediante el uso de un microscopio convencional; los restos nucleares se observan como una estructura intracitoplasmática de aspecto filamentoso o reticulado [11, 13], como se observa en la **figura 21**. Aparte de ser un método tedioso, al tener que contar 1.000 células por estudio, es de poca precisión debido a la gran variabilidad en los extendidos, en la coloración y en la interpretación por parte del observador. Se estima que el coeficiente de variación para esta prueba es de 25% a 50% [67, 68].

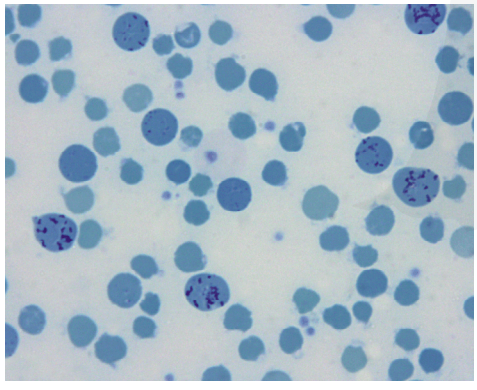

Figura 21. Recuento manual de reticulocitos utilizando la coloración de azul brillante de crecilo. 100X.

Recuento electrónico

El recuento electrónico se puede hacer por citometría de flujo como una prueba independiente o en los autoanalizadores de hematología de cuarta generación como parte integral del hemograma.

Gracias a la incorporación a mediados de la década de los 80 de la naranja de tiazol al arsenal de reactivos de citometría de flujo [69], se pueden medir los reticulocitos en el laboratorio clínico con una excelente precisión y exactitud, con coeficiente de variación alrededor del 4% [70, 71]. Tiene como inconveniente el hecho de que para hacerlo se requiere de un citómetro de flujo y que la prueba es independiente del hemograma, lo que necesariamente se traduce en mayores costos para la prueba. En la **figura 22** se muestra un recuento de reticulocitos por citometría de flujo.

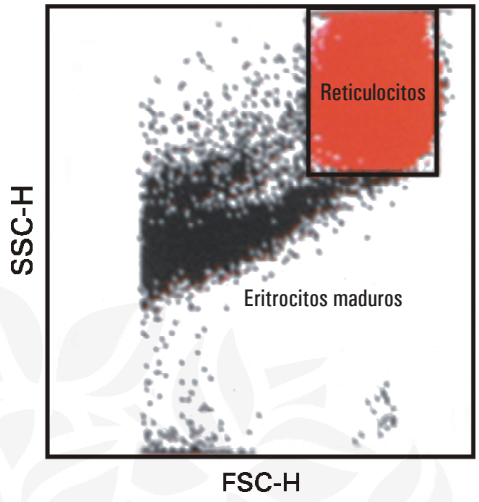

Figura 22. Recuento de reticulocitos por citometría de flujo. La zona roja corresponde a los reticulocitos que tienen un mayor tamaño y complejidad (granulaciones) que los eritrocitos maduros.

Más recientemente, los autoanalizadores de hematología de cuarta generación han incorporado dentro de los parámetros constitutivos del hemograma, el recuento de reticulocitos y los parámetros con él relacionados como las subpoblaciones de acuerdo con la fluorescencia (elevada, media y baja) que corresponden al grado de maduración de los mismos, en donde los primeros son los reticulocitos más jóvenes o inmaduros, en tanto que los últimos representan los reticulocitos más maduros y cercanos al eritrocito adulto [72]. En las **figuras 23** a **25** se muestra un citograma correspondiente al estudio de reticulocitos con un autoanalizador de hematología de cuarta generación, Sysmex® XE-2100 [28].

Un parámetro relacionado con los reticulocitos con futuro en el ámbito clínico es el índice de reticulocitos inmaduros que corresponde a la sumatoria de los reticulocitos de media y alta fluorescencia, ya que permite identificar con mayor antelación la recuperación de la medula ósea postransplante puesto que aparecen a los 13 días, a diferencia de los neutrófilos que aparecen a los 27 días y las plaquetas a los 38 días [73] y en este mismo sentido, se considera que un incremento del 2% en la fracción de reticulocitos inmaduros durante dos días consecutivos es indicador sensible de la recuperación de la actividad de la medula ósea [74]

Además de estos parámetros, algunos autoanalizadores de hematología aportan al hemograma un nuevo parámetro de gran utilidad clínica como es la hemoglobina reticulocitaria, que se analizará más adelante.

Valores de referencia

El valor de referencia del recuento de reticulocitos por citometría de flujo, en una entidad privada de Medellín, Colombia [18] es el siguiente: valor relativo: 0,6% a 2,7%; valor absoluto: 30.000 a 70.000 por µL. Debe insistirse en que cada laboratorio clínico debe definir sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población, la instrumentación y la altura sobre el nivel del mar que pueden modificar los parámetros de un lugar a otro y de una institución a otra [19].

Además, como el recuento porcentual de reticulocitos sólo establece la proporción entre los eritrocitos maduros y los recién nacidos, es necesario ajustar el porcentaje con relación al grado de la anemia, ya sea por la hemoglobina o por el hematocrito, y para lograrlo se aplica una de las siguientes fórmulas:

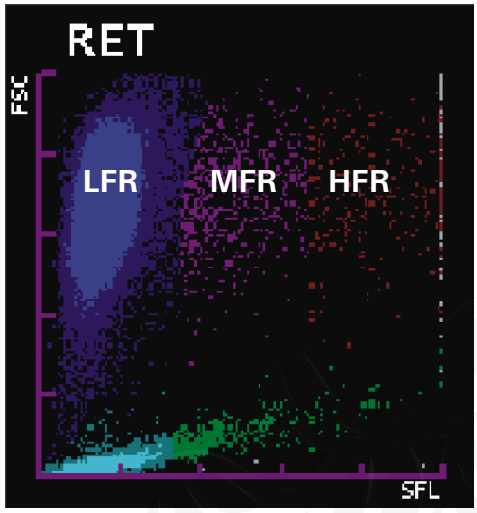

Figura 23. Citograma de reticulocitos en un paciente con valores normales. LFR: fracción de reticulocitos de baja fluorescencia; MFR: fracción de reticulocitos de media fluorescencia; HFR: fracción de reticulocitos de alta fluorescencia. Sysmex® XE-2100.

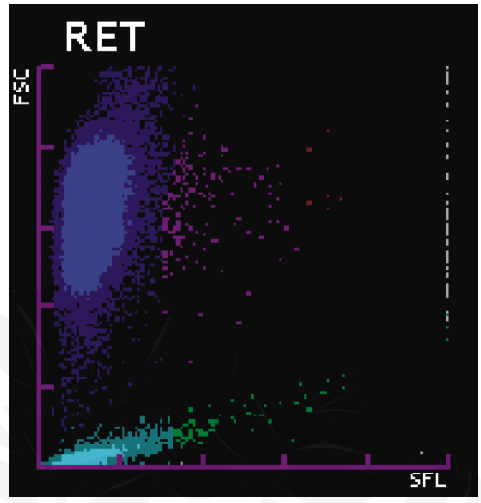

Figura 24. Recuento de reticulocitos en un paciente con valores bajos. Sysmex® XE-2100.

- Corrección por hemoglobina en hombres

Recuento porcentual x hemoglobina ÷ 15

- Corrección por hemoglobina en mujeres

Recuento porcentual x hemoglobina ÷ 13,5

- Corrección por hematocrito en hombres

Recuento porcentual x hematocrito ÷ 45

- Corrección por hemoglobina en mujeres

Recuento porcentual x hematocrito ÷ 40

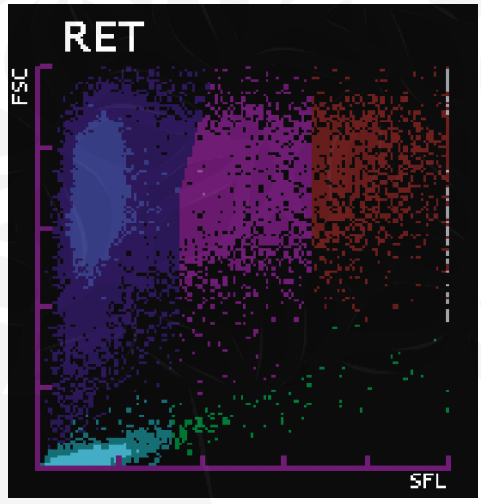

Figura 25. Recuento de reticulocitos en un paciente con valores altos. Sysmex® XE-2100.

Utilidad clínica del recuento de reticulocitos

El recuento de reticulocitos es la prueba más simple para evaluar la actividad eritropoyética de la medula ósea. Así, las anemias en donde hay aumento de reticulocitos (reticulocitosis) se consideran que son regenerativas, mientras que cuando están bajos (reticulocitopenia) son arregenerativas. Considerando lo anterior, el recuento de reticulocitos constituye un estudio complementario imprescindible en el estudio y clasificación de las anemias. También es de utilidad clínica en situaciones en donde la medula ósea es objeto de agresión, como sucede tras la radioterapia o la quimioterapia antineoplásica, ya que permite evaluar la capacidad de respuesta de la medula ósea. Los reticulocitos, especialmente la fracción de alta fluorescencia, al ser la primera en aparecer y la más sensible, es un excelente marcador en el transplante de medula ósea [75] y en la inmunosupresión en el manejo de la anemia aplástica [76], entre otras indicaciones clínicas.

Observaciones

El recuento manual de reticulocitos tiene un coeficiente de variación muy alto, que de acuerdo con estudios del Colegio Americano de Patólogos está alrededor del 30% a pesar de que se hagan dentro de los mejores estándares de calidad [68], motivo por el cual la prueba no sólo ha perdido vigencia sino que no justifica insistir en esta tecnología cuando es posible obtener unos resultados con mayor precisión en los hemogramas tipo VI de la clasificación de la Sociedad Colombiana de Patología Clínica [7], que con seguridad serán de gran utilidad en la práctica médica del futuro. Otra alternativa al recuento de reticulocitos por varios años fue la citometría de flujo con tiazol, entre otros colorantes [77]. Como ya se mencionó, el recuento de reticulocitos como parte del hemograma está disponible en la mayoría de los autoanalizadores de hematología de cuarta generación como en los modelos Technicon H3 (Bayer®) [78], Sysmex® R-2000, R-3000 [73, 79] y XE-2100 [80], ABX® Pentra 120 (Horiba, ABX®) [79], Cell-Dyn 3500, Cell-Dyn 4000 (Abbott®) [81, 82], Gen-S (Coulter-Beckman®) [82], entre otros, y no hay duda de la importancia de tenerlo disponible en todos los hemogramas que se hagan en el futuro.

Hemoglobina reticulocitaria

Uno de los nuevos parámetros derivados de los autoanalizadores de hematología de última generación es la hemoglobina reticulocitaria que está disponible en los equipos ADVIA® 2120 y Sysmex® XE-2100 [83, 84]. La hemoglobina reticulocitaria como su nombre lo indica corresponde a la hemoglobina en los reticulocitos.

Valores de referencia

De acuerdo con lo reportado en la literatura mundial, los valores de referencia para la hemoglobina reticulocitaria están entre 24,1 a 35,8 pg [84]. En el medio aún no hay estudios que definan los valores de referencia de la hemoglobina reticulocitaria como se recomienda en las buenas prácticas de laboratorio [19].

Utilidad clínica

La hemoglobina reticulocitaria es de particular importancia en la detección precoz de la disminución de los niveles del depósito de hierro, de particular importancia en los pacientes con enfermedad renal que reciben eritropoyetina [85-89] y como prueba tamiz en la detección y el manejo de la ferropenia en la población general [84, 90-95], en los procesos en donde se suprime la hematopoyesis, como tras la quimioterapia [96, 97]. La hemoglobina reticulocitaria también ha demostrado ser útil la detección del doping por eritropoyetina como se ha demostrado recientemente [98].

Observaciones

Esta prueba sólo está disponible en los hemogramas tipo VI. Vale la pena resaltar que la precisión y la estabilidad de la hemoglobina reticulocitaria es excelente y sólo se presentan mínimas variaciones en los resultados con el tiempo, tanto si las muestras se han dejado a temperatura ambiente como si se han refrigerado a 4°C [84].

Ancho de distribución de la hemoglobina

Es un parámetro análogo al ancho de distribución de los eritrocitos que representa la desviación estándar de la concentración de la hemoglobina en el histograma de los eritrocitos [99]. Desde el punto de vista práctico, sólo está disponible en los autoanalizadores de hematología de la marca Technicon.

Figura 26. Pipeta de dilución para glóbulos blancos.

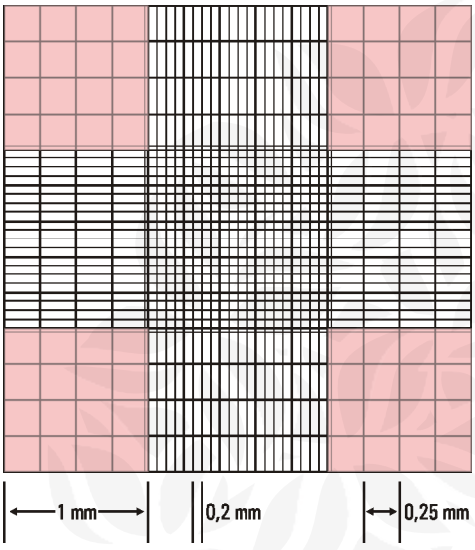

Figura 27. Detalle de la cámara de Neubauer. El área total de la cámara es de 3x3 mm, con 9 cuadrados grandes. Los leucocitos se cuentan en los 4 cuadrados coloreados.

Valores de referencia

De acuerdo con Billett y colaboradores, el valor de referencia, oscila, entre 1,82% y 2,64% [99]. En el medio aún no hay estudios que definan el ancho de distribución de la hemoglobina como se recomienda en las buenas prácticas de laboratorio [19].

Utilidad clínica

Se ha intentado utilizarlo en el diagnóstico diferencial de las anemias ferropénicas con los síndromes talasémicos [66, 100], las crisis dolorosas de la anemia falciforme [99] y la esferocitosis hereditaria [101], entre otras enfermedades, sin datos concluyentes hasta el momento.

Observaciones

Hasta el momento hay muy poca literatura sobre este nuevo parámetro y en consecuencia se deben esperar más evaluaciones para incorporarlo al hemograma de rutina.

Leucograma

Se define como el análisis cuantitativo y cualitativo de los parámetros relacionados con los glóbulos blancos o leucocitos en sangre periférica. Del leucograma hacen parte el recuento total y el recuento diferencial de leucocitos, incluidas las alteraciones morfológicas que puedan presentarse. Además de los parámetros cuantitativos, también hace parte integral del leucograma el estudio de la morfología de los leucocitos en extendidos de sangre periférica, que, junto a la morfología de los eritrocitos y las plaquetas, se analizarán en un próximo módulo.

Recuento total de leucocitos

El recuento de leucocitos consiste en determinar la cantidad de glóbulos blancos en sangre periférica por unidad de volumen por microlitro (µL), milímetro cúbico (mm^3) o litro (L), de acuerdo con el sistema de unidades adoptado en el laboratorio clínico o en la región. Desde el punto de vista de la metodología disponible en el laboratorio clínico, el recuento de leucocitos se puede hacer por método manual o electrónico.

Método manual

Para hacer el recuento de leucocitos por método manual se requiere una pipeta de dilución para glóbulos blancos como la que se muestra en la **figura 26**, una cámara de Neubauer, utilizando los espacios que se muestran en la **figura 27**, y un microscopio óptico estándar [11-13].

Método electrónico

El recuento total de leucocitos se hace similar al recuento de eritrocitos en la mayoría de los autoanalizadores de hematología, mediante la tecnología de impedancia, previamente descrita [34] e incorporada al autoanalizador de hematología.

Valores de referencia

En la **tabla 7** se presentan los valores de referencia para el recuento total de leucocitos en una entidad privada de Medellín, Colombia [18]. Debe insistirse en el hecho de que cada laboratorio clínico debe definir sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población y la instrumentación que pueden modificar los parámetros de un lugar a otro y de una institución a otra [19].

Utilidad clínica

El recuento total de leucocitos es indispensable para definir los conceptos de leucopenia y leucocitosis, situaciones que se pueden presentar asociadas con una amplia gama de enfermedades.

Observaciones

El método manual, aparte de tener la inexactitud inherente a la tecnología [14], es tedioso, gasta mucho recurso humano y, en la práctica, sólo estaría indicado cuando el laboratorio clínico tiene muy pocos hemogramas y su presupuesto es exiguo. Desde el punto de vista de la clasificación de los hemogramas, el recuento total de leucocitos por métodos manuales está contemplado en los hemogramas tipo I y II [7, 8]. Contrario a lo anterior, los coeficientes de variación del recuento total de leucocitos por métodos electrónicos, independiente del instrumento utilizado, usualmente están por debajo del 1% [102]. Con relación al recuento total de leucocitos es importante recordar que éste tiene variaciones importantes relacionadas con la raza, siendo más bajo en la raza negra que en la blanca [103]; tiene variaciones circadianas, encontrándose los valores más altos en las horas de la tarde [104]; se eleva por el ejercicio, el estrés y algunos medicamentos, como la epinefrina, con incremento de 2.000 a 5.000 por μL, que puede llegar incluso a ser superior a 30.000 por μL [105]. El recuento total de leucocitos también se eleva en el embarazo y se normaliza a partir de la primera semana posparto [106], en tanto a que tiende a ser más bajo a medida que pasan los años, especialmente en la subpoblación de linfocitos, posiblemente por «agotamiento celular». En los últimos años se ha enfatizando en el papel del recuento total de leucocitos elevado como factor de riesgo cardiovascular independiente [107, 108].

Recuento diferencial de leucocitos

El recuento diferencial de leucocitos corresponde a la concentración de las subpoblaciones de glóbulos blancos en sangre periférica. Independiente del método para obtenerlo, bajo condiciones normales, el recuento diferencial de leucocitos está constituido por 5 poblaciones a saber: polimorfonucleares neutrófilos, polimorfonucleares eosinófilos, polimorfonucleares basófilos, linfocitos y monocitos.

Método manual

A partir del momento en que se introdujo la coloración panóptica de Romanowsky en 1891 hasta el final de la década del 60 [109] y principio de la década del setenta, con la introducción del primer autoanalizador de hematología con recuento diferencial de leucocitos, el modelo

Coulter-S [110], la única manera de hacer el recuento diferencial de leucocitos era mediante su identificación microscópica, de una en una, hasta completar 100 a 200 células en el extendido de sangre periférica. Los diferenciales manuales, aparte de las pocas células estudiadas, es un procedimiento tedioso que consume mucho tiempo del profesional y está sujeto a una amplia variabilidad en los resultados debido al escaso número de leucocitos analizados y a la falta de distribución uniforme de las diferentes subpoblaciones en el extendido de sangre periférica. Además de lo anterior, el recuento diferencial de leucocitos por método manual depende de la calidad del extendido de sangre periférica, de la calidad de la coloración y, sobretodo, de la experiencia y habilidad del observador, motivo por el cual la mayoría de los estudios por esta metodología en el medio dejan mucho que desear. Ante la dificultad que usualmente tiene un laboratorio clínico para controlar totalmente estas variables, es recomendable el empleo de autoanalizadores de hematología que permitan estandarizar los procedimientos e idealmente utilizar automatización para hacer y colorear los extendidos de sangre periférica.

Método electrónico

La mayoría de los autoanalizadores de hematología disponibles en el mercado del laboratorio clínico realizan el recuento diferencial de leucocitos [111]. De acuerdo con la tecnología incorporada, y en consecuencia con el costo de los instrumentos, las variaciones de una máquina a otra máquina pueden ser muy amplias. Desde el punto de vista práctico, en el mercado de la automatización de la hematología se dispone de tres tipos de recuento diferencial de leucocitos: de tres partes en los hemogramas tipo IV, de cinco partes en los hemogramas tipo V y de cinco partes extendido en los hemogramas tipo VI, de acuerdo con la clasificación de la Sociedad Colombiana de Patología Clínica [7].

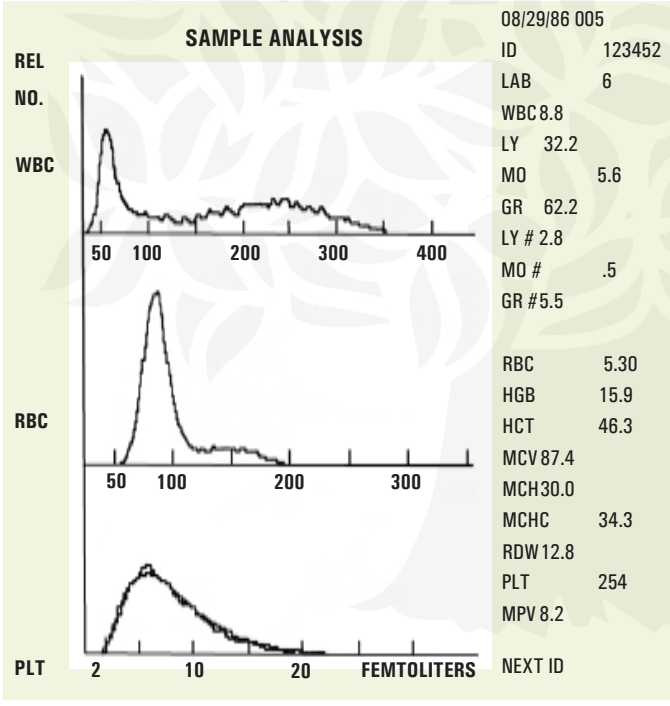

Figura 28. Reporte de un hemograma tipo IV (Coulter® JR). A la izquierda, de arriba hacia abajo, aparecen los histogramas de leucocitos, eritrocitos y plaquetas. A la derecha, en el mismo orden, aparecen la identificación del paciente, los recuentos del eritrograma, del leucograma y del trombograma. Frente a los parámetros alterados aparecen las llamadas de atención o alarmas [21].

Recuento diferencial de leucocitos de tres partes

La primera automatización a gran escala del recuento diferencial de leucocitos se dio en la primera mitad de la década de los 70 con la incorporación al mercado del laboratorio clínico de los autoanalizadores de hematología de la serie Coulter-S de Coulter Electronics [110]. Para lograrlo, después de un proceso denominado «estromatolización» en donde a los

leucocitos, para poder ser contados por impedancia, con sustancias químicas se les reduce el citoplasma sin ser destruido, de tal manera que queda una nueva célula de un tamaño proporcional al núcleo de la misma; estas células, por impedancia pueden ser contadas y medidas con lo cual se obtiene un histograma de volumen similar al que se observa en la **figura 28**, en donde aparecen tres poblaciones claramente definidas: linfocitos, monocitos (también conocido como mixto por la presencia de linfocitos grandes y monocitos, y granulocitos. A este grupo corresponden, como ejemplo de algunos autoanalizadores de hematología más populares en su momento, los modelos de Coulter S (modelos Plus [112], Plus II [113], Plus III, Plus IV [114], Plus V [115] y STKR [116]), Sysmex® (modelos E-4000 [117] y TOA E-5000 [118]) y Sequoia-Turner (Cell Dyn 900 [119]), entre otros, los cuales corresponden a la mayoría de los autoanalizadores de hematología que funcionan en el país.

Al informar globalmente el recuento diferencial de leucocitos, este tipo de hemograma es de cierta limitación si se compara con estudios más elaborados de cinco partes como los de hoy y con el recuento manual de leucocitos, pero ofrece un acercamiento general a la verdadera condición del paciente en el contexto de un hemograma tamiz que de ser positivo (tener alarmas) requeriría mayor dedicación del personal del laboratorio clínico que debería complementarlo con recuento diferencial manual. Infortunadamente en nuestro país son pocos los laboratorios clínicos que han implementado esta tecnología que en otras latitudes ha pasado a la historia, para dar paso a la de los recuentos diferenciales de leucocitos de 5 partes en los hemogramas tipo V y a los recuentos diferenciales de leucocitos de 5 partes extendidos de alta eficiencia analítica y operativa, con una excelente relación costo-eficiencia.

Recuento diferencial de leucocitos de 5 partes

El recuento diferencial de leucocitos de cinco partes apareció en el mercado de los instrumentos de hematología cuando en 1974 la compañía Technicon puso a disposición en el mercado el autoanalizador de hematología denominado Hemalog-D, el primer instrumento que realmente contaba las cinco subpoblaciones de leucocitos en sangre periférica [120]. Para lograr el objetivo, este contador de células realizaba el recuento diferencial de leucocitos basándose en el tamaño de las células por impedancia y en las características de éstas de acuerdo con ciertas propiedades químicas de las células, en donde la peroxidasa identificaba los polimorfonucleares neutrófilos y los polimorfonucleares eosinófilos, el azul alcián los polimorfonucleares basófilos y las estearasas los monocitos [111].

En estos nuevos hemogramas, que corresponden a los tipo V de la clasificación de la Sociedad Colombiana de Patología Clínica [7], no sólo se evalúan los leucocitos por su volumen nuclear, sino también por su complejidad, granularidad y estructura, que produce cambios en la dispersión de un rayo de luz láser, que en algunos aparatos analiza los glóbulos a diferentes ángulos y con luz despolarizada. Esta parece ser la forma más sensible desarrollada hasta hoy para este análisis, superada solamente por la citometría de flujo que clasifica inmunofenotípicamente las poblaciones, con la ayuda de anticuerpos monoclonales, y de aplicaciones múltiples en hematología, oncología y muchas más, como corresponde a los hemogramas tipo VI [7].

En la **figura 29** se muestra un informe típico de este hemograma [21] que corresponde a un hemograma tipo V de la clasificación de la Sociedad Colombiana de Patología Clínica [7].

Recuento diferencial de leucocitos de 5 partes extendido

Los autoanalizadores de hematología de cuarta generación no sólo han incorporado a los instrumentos la tecnología de los años que los precedieron, sino que con la ayuda de los rayos

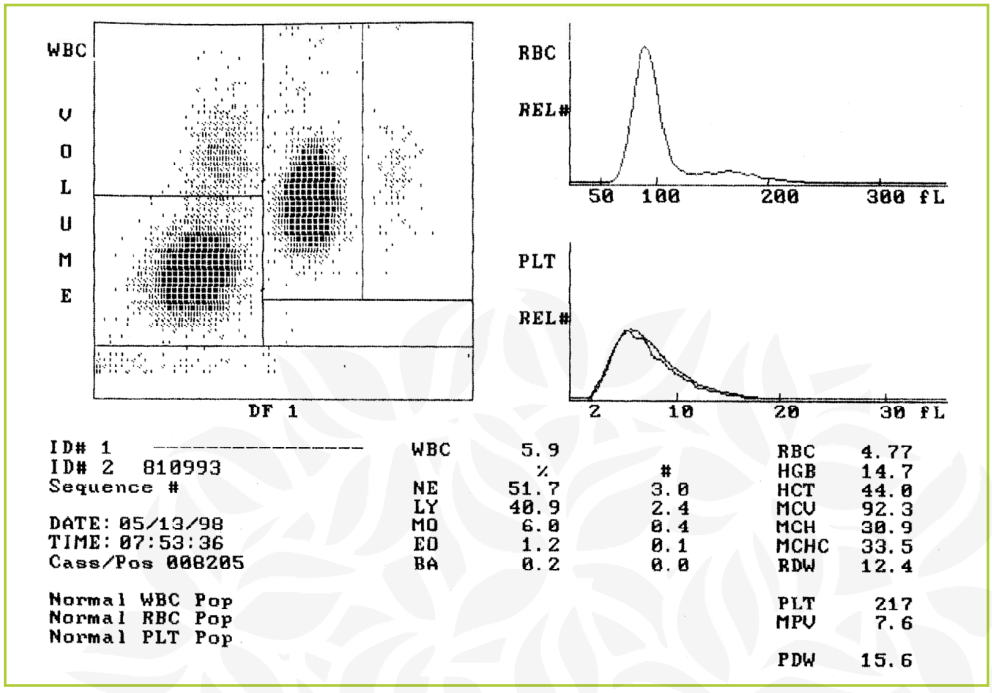

Figura 29. Reporte de un hemograma tipo V (Coulter® Maxcell). A la izquierda, de arriba hacia abajo, aparecen los histogramas de leucocitos, eritrocitos y plaquetas. A la derecha, en el mismo orden, aparecen la identificación del paciente, los recuentos del eritrograma, del leucograma y del trombograma. Frente a los parámetros alterados aparecen las llamadas de atención o alarmas [21].

láser y los anticuerpos monoclonales han convertido a estos instrumentos en unos verdaderos citómetros de flujo en donde todo es posible desde el punto de vista del estudio de las poblaciones celulares. Con estos hemogramas, aparte del recuento diferencial de leucocitos convencional, en donde se identifican y se cuantifican los polimorfonucleares neutrófilos, los polimorfonucleares eosinófilos, los polimorfonucleares basófilos, los linfocitos y los monocitos, es posible mediante un software incorporado o la determinación del operador, identificar poblaciones de células, entre ellas subpoblaciones de linfocitos (linfocitos CD4 y CD8), células madre (CD34), células inmaduras y eritroblastos, como parte integral del recuento diferencial [111]. En la **figura 30** se muestra un citograma típico de este hemograma y en la **figura 31** un citograma de un paciente con desviación a la izquierda.

Además de los aspectos relacionados con el recuento diferencial de leucocitos, en este tipo de hemograma es posible identificar otros elementos presentes en las células, como es el caso de los parásitos de malaria [121, 122] que se muestra en la **figura 32**.

Valores de referencia

En la **tabla 7** se presentan los valores de referencia para el recuento diferencial de leucocitos en una entidad privada de Medellín, Colombia [18]. Debe insistirse en el hecho de que cada laboratorio clínico debe definir sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población y la instrumentación que pueden modificar los parámetros de un lugar a otro y de una institución a otra [19].

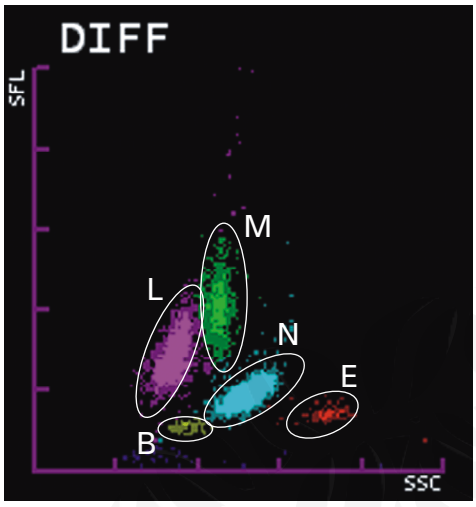

Figura 30. Citograma de leucocitos de un paciente con valores normales. L: linfocitos; M: monocitos; N: polimorfonucleares neutrófilos; E: polimorfonucleares eosinófilos; B: polimorfonucleares basófilos. Sysmex® XE-2100.

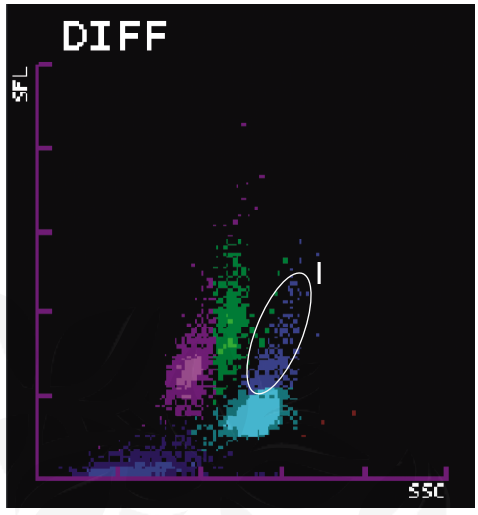

Figura 31. Citograma que muestra leucocitosis con presencia de células inmaduras (desviación a la izquierda). I: granulocitos inmaduros. Sysmex® XE-2100.

Utilidad clínica

El recuento diferencial de leucocitos permite establecer los conceptos de neutrofilia, neutropenia, agranulocitosis, eosinofilia, eosinopenia, basofilia, basopenia, monocitosis, monocitopenia, linfocitosis y linfopenia que pueden estar asociados a enfermedades benignas como procesos infecciosos, procesos inflamatorios y mielotoxicidad, entre otros, o enfermedades malignas como leucemia y mieloptisis.

Observaciones

Ver los comentarios de los subtítulos anteriores relacionados con el recuento diferencial de leucocitos, en particular los de tipo electrónico.

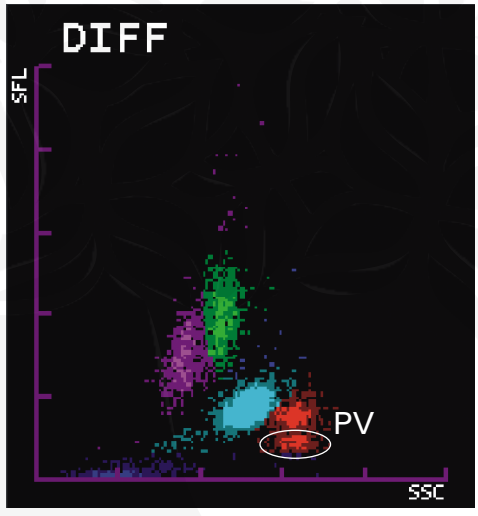

Figura 32. Citograma de un recuento diferencial de leucocitos, donde se observa una población adicional en la zona de los polimorfonucleares eosinófilos que corresponde a *Plasmodium vivax* (PV). Sysmex® XE-2100.

Trombograma

Se define como el análisis cuantitativo y cualitativo de los parámetros relacionados con las plaquetas en sangre periférica. Del trombograma hacen parte el recuento convencional de plaquetas y los nuevos parámetros derivados de los contadores electrónicos como volumen medio plaquetario, el ancho de distribución de las plaquetas, el plaquetocrito y el índice de plaquetas inmaduras, que serán analizados en detalle en los siguientes subtítulos. Además de los parámetros cuantitativos, también hacen parte integral del trombograma el estudio de la

Tabla 7. Valores de referencia del leucograma de acuerdo con la edad y género [18].

Edad y género	Leucocitos por µL	PNN por µL	Bandas por µL	PNE por µL	PNB por µL	Linfocitos por µL	Monocitos por µL
1 a 15 días, ambos géneros	9.000 a 30.000	1.000 a 12.000	0 a 100	40 a 500	0 a 50		
16 a 31 días, ambos géneros	5.000 a 21.000	1.000 a 12.000	0 a 100	40 a 500	0 a 50		
1 a 12 meses, ambos géneros	6.000 a 17.500	1.000 a 12.000	0 a 100	40 a 500	0 a 50	3.000 a 9.000	30 a 750
1 a 5 años, ambos géneros	5.500 a 15.500	1.700 a 7.500	0 a 100	40 a 500	0 a 50	3.000 a 9.000	30 a 750
6 a 14 años, ambos géneros	4.500 a 14.500	1.500 a 6.500	0 a 100	40 a 500	0 a 50	2.000 a 7.200	
15 a 99 años, hombres	4.500 a 11.000	1.500 a 8.000	0 a 100	40 a 500	0 a 50	1.500 a 4.000	30 a 900
15 a 99 años, mujeres	4.500 a 11.000	1.500 a 8.000	0 a 100	40 a 500	0 a 50	1.500 a 4.000	30 a 900

Convenciones: PNN: polimorfonucleares neutrófilos; PNE: polimorfonucleares eosinófilos; PNB: polimorfonucleares basófilos.

morfología de las plaquetas en extendidos de sangre periférica, que, junto a la morfología de los eritrocitos y los leucocitos, se analizarán en un próximo módulo.

Recuento de plaquetas

La experiencia acumulada en los últimos años ha demostrado que el recuento de plaquetas y los nuevos parámetros plaquetarios son importantes en un sinnúmero de entidades clínicas diferentes a los trastornos plaquetarios y es así como todos los autoanalizadores de hematología los han incorporado a la rutina del hemograma. Como en los casos anteriores, el recuento de plaquetas puede hacerse manual o electrónicamente.

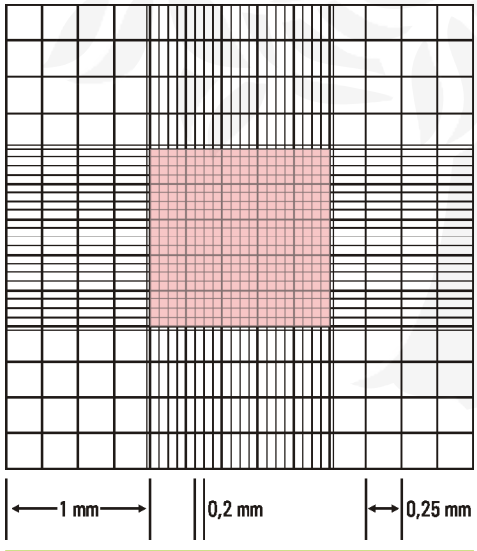

Figura 33. Detalle de la cámara de Neubauer. El área total de la cámara es de 3x3 mm, con 9 cuadrados grandes. Las plaquetas se cuentan en el cuadrado coloreado del centro.

Método manual

Hasta la incorporación de los contadores de células al equipamiento de los laboratorios clínicos, la única manera de contar las plaquetas era con la pipeta de rojos (ver **figura 2**) y la cámara de Neubauer, utilizando los espacios que se muestran en la **figura 33**, teniendo como prueba de referencia la microscopía de contraste de fase [123], que sólo ha estado o estuvo disponible en unos pocos laboratorios de investigación.

Método electrónico

La plaquetas pueden ser contadas y analizadas mediante la impedancia y la dispersión óptica. La impedancia, similar a la que permite hacer

el recuento de eritrocitos y el recuento total de leucocitos, es el sistema más utilizado en los autoanalizadores de hematología para el recuento de plaquetas. La segunda alternativa para el recuento de plaquetas es la dispersión óptica, que en el caso de los instrumentos de última generación de Abbott®, marcan las plaquetas con anticuerpos dirigidos contra la membrana de las plaquetas, por ejemplo contra la glucoproteína IIIa (CD61), y las identifican por láser incorporado al instrumento. En el caso de los últimos autoanalizadores de hematología de Sysmex®, como el XE-2100 [28], se utiliza la impedancia de rutina y la dispersión óptica sólo para los casos en donde hay trombocitopenia o hay alarmas que así activen el software para dicho objetivo, como se muestra en las **figuras 34** y **35**.

Aparte de que los recuentos plaquetarios derivados de los autoanalizadores de hematología, especialmente los de cuarta generación [29, 35, 124, 125] se pueden obtener otros parámetros de utilidad clínica relacionados con las plaquetas que serán analizados a continuación.

Valores de referencia

El valor de referencia de las palquetas es de 150.000 a 450.000 por µL [18]. Debe insistirse en el hecho de que cada laboratorio clínico debe definir y ajustar sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población y la instrumentación que pueden modificar los parámetros de un lugar a otro y de una institución a otra [19].

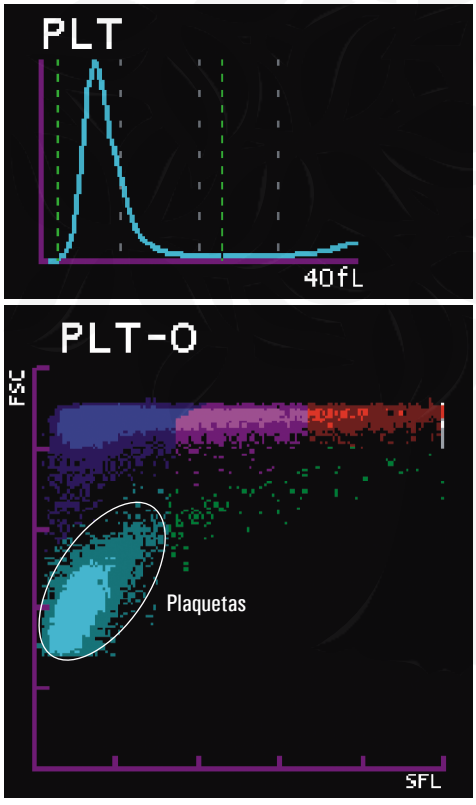

Figura 34. Histograma de plaquetas de un paciente con valores normales. En la gráfica superior mediante tecnología de impedancia y en la gráfica inferior mediante tecnología de dispersión óptica.

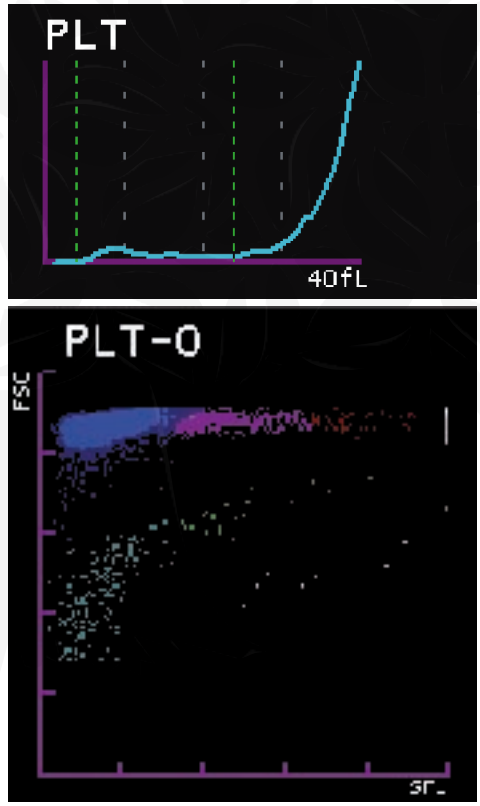

Figura 35. Histograma de plaquetas de un paciente con trombocitopenia severa. En este caso el autoanalizador activa el software para que el recuento se confirme por dispersión óptica. Sysmex® XE-2100.

Utilidad clínica

El recuento de plaquetas es un criterio indispensable para definir los conceptos de trombocitopenia y trombocitosis.

Observaciones

De acuerdo con la tecnología utilizada el recuento de plaquetas puede tener algunas dificultades que el médico y el laboratorio clínico deben conocer debido a que pueden ser fuente de errores con resultados catastróficos para el paciente si no se controlan estas situaciones adecuadamente, como se analizó recientemente en Medicina & Laboratorio [133]

Los recuentos de plaquetas por métodos manuales, aparte de ser tediosos, consumen mucho tiempo del profesional y a pesar de que se sigan los más estrictos criterios de calidad y se hagan por personal experimentado, tienen un coeficiente de variación que puede llegar hasta el 60% [14]. Además, a la luz de la disponibilidad tecnológica en los laboratorios clínicos, los métodos manuales para determinar los componentes del hemograma en general y el recuento de plaquetas en particular, no son costo a eficientes porque, como se ha expresado con relación a la mayoría de los parámetros obtenidos por métodos manuales, consumen mucho recurso humano, están limitados a pocos parámetros y sobretodo, son muy imprecisos [134] por lo que en la actualidad no son recomendables.

Con los contadores electrónicos, el recuento de plaquetas puede estar falsamente bajo si hay tromboaglutininas [135, 136] y satelitismo plaquetario [137, 138], generalmente dependiente del EDTA (anticoagulante de hematología) [139] y cuando hay microcoagulación, usualmente por problemas técnicos relacionados con la calidad de la muestra, problemas que se han resuelto con los autoanalizadores de hematología de cuarta generación.

Volumen medio plaquetario

El volumen medio plaquetario, define, en fL como unidad de volumen, el tamaño de las plaquetas [17, 21, 140, 141]. El volumen medio plaquetario es un parámetro exclusivo de los autoanalizadores de hematología de tercera y cuarta generación y por lo tanto sólo están disponibles en los hemogramas tipo IV, V y VI de acuerdo con la clasificación de la Sociedad Colombiana de Patología Clínica [7].

Valores de referencia

El valor de referencia del volumen medio plaquetario es de 6,5 fL a 13,5 fL [18]. Debe insistirse en el hecho de que cada laboratorio clínico debe definir sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población y la instrumentación que pueden modificar los parámetros de un lugar a otro y de una institución a otra [19].

Utilidad clínica

El volumen medio plaquetario determina los conceptos de normotrombocitos, microtrombocitos y macrotrombocitos, para referirse a plaquetas de tamaño normal, pequeño o grande, de ahí la importancia de la calidad (exactitud y precisión) de la medición. Desde el punto de vista de la utilidad clínica, el volumen medio plaquetario es un parámetro que mide la función y la activación de las plaquetas y en este sentido podría afirmarse que cuando está elevado es un signo de «regeneración plaquetaria» como usualmente se presenta en pacientes con trombocitopenia por destrucción periférica de plaquetas, tanto inmunológica como no inmunológica, en donde característicamente hay aumento de la megacariocitopóyesis

con hiperplasia megacariocítica en la medula ósea [140, 142-145]. La hiperactividad de la megacariocitopóyesis se expresa en el hemograma con plaquetas más grandes, que en los autoanalizadores de hematología de cuarta generación corresponden a plaquetas inmaduras o reticuladas, como un nuevo parámetro plaquetario que se analizará más adelante. Al utilizar el volumen medio plaquetario y el porcentaje de plaquetas inmaduras en el diagnóstico diferencial de la trombocitopenia se ha observado que este último es más eficiente que el volumen de las plaquetas.

Contrario a lo anterior, cuando la trombocitopenia está relacionada con un defecto de la producción de plaquetas, el volumen medio plaquetario se encuentra por debajo de límite inferior, en pacientes con sepsis [146], con anemia aplástica [145, 147, 148], con anemia perniciosa [149], con leucemias agudas [150, 151], en los síndromes mielodisplásicos [152], en la leucemia linfocítica crónica [153], en la leucemia de células peludas [154], posterior a tratamientos de radioterapia y quimioterapia y en personas con síndrome de bazo gigante [155].

Ancho de distribución de las plaquetas

Similar al ancho de distribución de los eritrocitos, que determina el grado de anisocitosis (diferencias en el tamaño) de los eritrocitos, el ancho de distribución de las plaquetas, determina el grado de anisocitosis de las plaquetas [155]. El ancho de distribución de las plaquetas se deriva de cálculos mediante fórmulas matemáticas incorporadas al instrumento, de la misma manera que se obtiene el ancho de distribución de los eritrocitos, y se correlaciona estrechamente con el recuento de las plaquetas y el volumen medio plaquetario [156].

Valores de referencia

El valor de referencia del ancho de distribución de las plaquetas es de 15,4% a 16,8% [18]. Debe insistirse en el hecho de que cada laboratorio clínico debe definir sus respectivos valores de referencia de acuerdo con la población y la instrumentación que pueden modificar los parámetros de un lugar a otro y de una institución a otra [19].

Utilidad clínica y observaciones

Así como el ancho de distribución de los eritrocitos es de gran valor en el estudio y en el diagnóstico diferencial de las anemias [20], el ancho de distribución de las plaquetas es importante en el estudio de los síndromes mieloproliferativos [156] y en la anemia perniciosa [157], en donde característicamente está por encima de límite superior. En el caso de las trombocitopenias no tiene ningún valor [158].

Plaquetocrito

El plaquetocrito, equivalente al hematocrito en el eritrograma, representa el porcentaje del volumen de plaquetas sobre el volumen total de la sangre y se obtiene de la relación del recuento de plaquetas con el volumen medio plaquetario [17]. El plaquetocrito se obtiene por el instrumento mediante la fórmula:

Plaquetocrito = recuento de plaquetas x volumen medio plaquetario

Valores de referencia

De acuerdo con Beyan y colaboradores, el valor de referencia para el plaquetocrito, oscila, entre entre 0,085 y 0,287 [159]. En el medio aún no hay estudios que definan el valor de referencia del plaquetocrito la hemoglobina como se recomienda en las buenas prácticas de laboratorio [19].

Utilidad clínica y observaciones

Desde el punto de vista clínico, el plaquetocrito tiene poca utilidad clínica [144].

Plaquetas reticuladas

También conocidas como plaquetas inmaduras o reticuloplaquetas, son plaquetas jóvenes, de 1 a 2 días, que se caracterizan por una alto contenido de ARN que puede ser coloreado con un fluorocromo, como la auramina O, y cuantificado de forma independiente mediante un citómetro de flujo o por láser incorporado a un autoanalizador de hematología de cuarta generación como un nuevo parámetro del hemograma como se muestra en la **figura 36A**.

Valores de referencia

De acuerdo con el estudio realizado por Abe y colaboradores, el valor de referencia de las plaquetas reticuladas es de 0,48% ± 0,32 en los hombres y 0,48% ±0,32 en las mujeres [160]. En el medio aún no se tienen valores de referencia establecidos por lo novedoso de la tecnología.

Utilidad clínica

Las plaquetas reticuladas en pacientes trombocitopénicos se correlacionan directamente con la actividad megacariocítica y reflejan el estado clínico de la enfermedad [148, 161-163], convirtiéndosen en un importante indicador de los pacientes con trombocitopenia. Las plaquetas reticuladas también se han encontrado relacionadas con otras enfermedades como la arteriosclerosis y sus complicaciones [164, 165], incluido el síndrome agudo coronario [166] y como predictor de la recuperación en los transplantes de medula ósea [167, 168] y

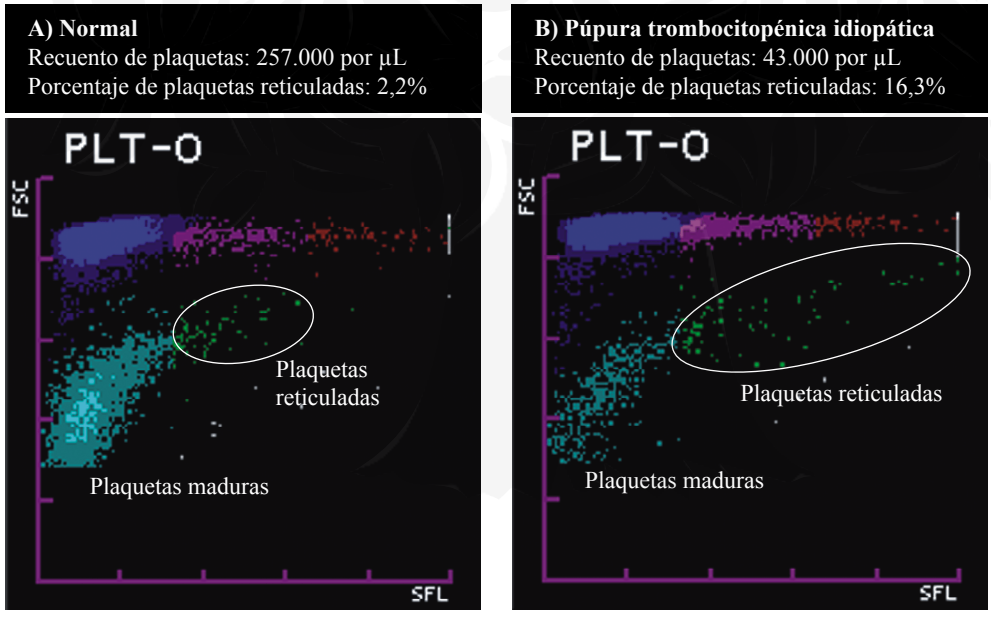

Figura 36. Citograma de plaquetas de un individuo saludable con un porcentaje de plaquetas reticuladas normal (A) y de un paciente con púrpura trombocitopénica idiopática con un aumento del porcentaje de plaquetas reticuladas (B). Las plaquetas maduras están representadas por los puntos azules y los verdes representan el porcentaje de las plaquetas reticuladas, las cuales tienen un tamaño y una intensidad de la fluorescencia mayores si se comparan con las de las plaquetas normales [133]. Sysmex® XE-2100.

la quimioterapia [169] y en la indicación de transfusiones en pacientes con trombocitopenia profunda [170], entre otras.

En la **figura 36B** se muestra una de las indicaciones más importantes de las plaquetas reticuladas: el diagnóstico y manejo de la púrpura trombocitopénica idiopática [133].

Observaciones

Sólo están disponibles como una prueba de laboratorio independiente cuando se hacen por citometría de flujo [148, 161-163, 171] y en algunos autoanalizadores de hematología de cuarta generación de la compañía Sysmex® [28], disponibles en el medio.

Papel de la información gráfica relacionada con los hemogramas electrónicos

Los autoanalizadores de hematología con los cuales se realizan los hemogramas tipos IV, V y VI, además de la información relacionada con las mediciones, cálculos y alarmas, aportan información adicional gráfica cada vez más compleja, como histogramas, dispersogramas y citogramas, como los que aparecen a lo largo del presente módulo.

Tabla 8. Tipos de hemograma de acuerdo con sus componentes y su tecnología

Parámetros	**Tipo de hemograma**					
	I	**II**	**III**	**IV**	**V**	**VI**
Eritrograma						
Glóbulos rojos	M	M	M	M	M	M
Hemoglobina	M	M	M	M	M	M
Hematocrito	M	M	C	C	C	C*
Volumen corpuscular medio	C	C	M	M	M	M**
Hemoglobina corpuscular media	C	C	C	C	C	C
Concentración de la hemoglobina corpuscular media	C	C	C	C	C	C
Ancho de distribución de los eritrocitos (coeficiente de variación)						C
Ancho de distribución de los eritrocitos (desviación estándar)				C	C	C
Ancho de distribución de la hemoglobina						C
Recuento de reticulocitos						M
Índice de reticulocitos inmaduros						M
Hemoglobina reticulocitaria						M
Leucograma						
Recuento total de leucocitos	M	M	M	M	M	M
Recuento diferencial de leucocitos	M	M	M	M	M	M
Trombograma						
Recuento de plaquetas		M	M	M	M	M
Volumen corpuscular medio de las plaquetas				M	M	M
Plaquetocrito				C	C	C
Ancho de distribución de las plaquetas				C	C	C
Plaquetas reticuladas (inmaduras)						M

Convenciones: M: medición directa; C: derivado de un cálculo. * En los instruementos de cuarta generación Sysmex® y ABX son un valor medido; ** En los instruementos de cuarta generación Sysmex y ABX son un valor calculado.

Por motivos ajenos al objetivo de este módulo, en el medio no se le ha dado la verdadera utilización a esta información, ya que la mayoría de los laboratorios clínicos que disponen de esta tecnología se limitan a anexarlos como parte integral de los resultados del hemograma, en muchos casos en «bruto» como sale del instrumento, inclusive con iniciales en inglés y las alarmas sin ninguna interpretación, constituyéndose de esta manera en fuente de confusión y desinformación, más que de información y utilidad clínica. Aunque el ejemplo parezca burdo o exagerado, sería como entregar la placa con el extendido de sangre, sin su adecuada lectura, para que el médico la interprete.

Más importante que anexarlos a los resultados del hemograma, es utilizarlos e interpretarlos en el laboratorio y correlacionarlos con los valores informados por la máquina y con los hallazgos en los extendidos de sangre periférica. Nuestra experiencia con la incorporación de estos elementos al informe del hemograma, es que causa confusión, tanto al médico como al paciente, y en muchas oportunidades distrae la atención, pasando a un segundo nivel los principales hallazgos de la prueba y genera otros estudios o consultas innecesarias.

A título de resumen, en la **tabla 8** se relacionan los componentes y las características del hemograma de acuerdo con el tipo y la metodología utilizada.

Agradecimientos

A Magda Lucía Murillo Gil, del Servicio de Hematología Adultos de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia, por el material para ilustrar los métodos manuales, a Gloria Elsy Escobar Gallo, de la sección de Hematología del Laboratorio Clínico Hematológico, Medellín, Colombia, por el material para ilustrar los métodos electrónicos.

Summary: The hemogram or blood cell count is one of the tests that is more requested in clinical laboratories, and without any doubt, is the laboratory test that provides the most information for the physician in the evaluation of a patient. From the technical point of view there are six types of hemograms, starting with the traditional ones that are processed by manual methodology up to the most sophisticated that are performed by electronic methods that use a combination of technologies. Criteria that define the types of hemograms are established and the parameters and characteristics of each one are analyzed according to the methodology being used, their reference values, clinical indications and critical issues. The physician must request the hemogram that allows him to have confidence in the reported parameters and the clinical laboratory must make the technological investment that will produce the most precise and accurate results.

Key words: Hemogram, complete blood cell count, laboratory, clinic, reference values.

Campuzano-Maya G. From the manual hemogram to the fourth generation hemogram. Medicina & Laboratorio 2007; 13: 511-550.

Module 1 (Clinic and laboratory), number 65. Editora Médica Colombiana S.A., 2007©.

Bibliografía

1. **Alberts B.** Cells in their social context. *In* Molecular biology of the cell, Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Robersts K and Walter P. 4th edition, Academic Press; New York, USA. 2002; 1286-1287.
2. **Eadie GS, Brown IW, Jr.** Red blood cell survival studies. Blood 1953; 8: 1110-1136.
3. **Bautista AP, Buckler PW, Towler HM, Dawson AA, Bennett B.** Measurement of platelet life-span in normal

subjects and patients with myeloproliferative disease with indium oxine labelled platelets. Br J Haematol 1984; 58: 679-687.

4. **Heilmann E, Friese P, Anderson S, George JN, Hanson SR, Burstein SA, et al.** Biotinylated platelets: a new approach to the measurement of platelet life span. Br J Haematol 1993; 85: 729-735.
5. **Bounurant MC, Koury MJ**. Origin and development of blood cells. *In* Wintrobe's clinical hematology, Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F and Glader B. 11th Edition, Lipincott Williams & Wilkins; Philadelphia, PA, USA. 2004; 169-193.
6. **Gulati GL, Hyun BH**. The automated CBC. A current perspective. Hematol Oncol Clin North Am 1994; 8: 593-603.
7. **Sociedad Colombiana de Patología Clínica**. Manual de Codificación, Nomenclatura, Nivelación y Valores de Exámenes de laboratorio Clínico. Edimeco S.A., Medellín, Colombia. 2007, 1-100.
8. **República de Colombia, Ministerio de Protección Social**. Resolución 1896 de 2001 por la cual se sustituye integralmente la Clasificación Única de Procedimientos en Salud.
9. **Ruzicka K, Veitl M, Thalhammer-Scherrer R, Schwarzinger I**. The new hematology analyzer Sysmex XE-2100: performance evaluation of a novel white blood cell differential technology. Arch Pathol Lab Med 2001; 125: 391-396.
10. **College of American Pathologists**. Workload Recording Method & Personnel Management Manual. 1992.
11. **Fajardo Lobo-Guerrero LF**. Procedimientos básicos en hematología. *In* Técnicas de laboratorio en hematología clínica, Restrepo-Mesa A. Sociedad Colombiana de Hematología, Editorial de la Universidad de Anioquia; Medellín, Colombia. 1975; 3-58.
12. **Perkins SL**. Examination of the blood and bone marrow. *In* Wintrobe's clinical hematology, Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F and Glader B. 11th Edition, Lipincott Williams & Wilkins; Philadelphia, PA, USA. 2004; 16-34.
13. **Bain BJ, Lewis SM, Bates I**. Basic haematological techniques. *In* Dacie and Lewis practical haematology, Lewis SM, Bain BJ and Bates I. 5th edition, Churchill Livingston; Philadelphia, PA, USA. 2006; 26-57.
14. **Cartwright GE**. El laboratorio en el diagnóstico hematológico. Barcelona (España). 1973,
15. **Wintrobe MM**. Anemia: Classification and treatment on the basis of differences in the average volume and hemoglobin content of the red corpuscles. Arch Intern Med 1934; 54: 256-261.
16. **Coulter WH**. High speed automatic blood cell counter and cell size analyzer. Proc Natl Electronics Conf 1956; 12: 1034-1042.
17. **Campuzano-Maya G**. El hemograma electrónico. Laboratorio Al Día 1995; 5: 28-41.
18. **Laboratorio Clínico Hematológico**. Manual de procedimientos. 2007, Medellín, Colombia.
19. **Pincus MR, Abraham NZ**. Interpreting laboratory results. *In* Henry´s clinical diagnosis and management by laboratory methods, McPherson RA and Pincus MR. 21th edition, Saunders Elsevier; 2007; 76-90.
20. **Bessman JD, Gilmer PR, Jr., Gardner FH**. Improved classification of anemias by MCV and RDW. Am J Clin Pathol 1983; 80: 322-326.
21. **Campuzano-Maya G**. El hemograma. Medicina & Laboratorio 1998; 8: 19-32.
22. **Wintrobe M**. A simple and accurate hematocrit. J Lab Clin Med 1929; 15: 287-289.
23. **Bull BS, Fujimoto K, Houwen B, Klee G, van Hove L, van Assendelft OW, et al.** International Council for Standardization in Haematology (ICSH) recommendations for «surrogate reference» method for the packed cell volume. Lab Hematol 2003; 9: 1-9.
24. **World Health Organization**. Recomended method for the determination of packed cell volume by centrifugation (prepared by Expert Pane on cytometry of the International Council for WHO/DIL/00. WHO, Geneva 2000; 1: 1-9.
25. **Fairbanks VF**. Nonequivalence of automated and manual hematocrit and erythrocytic indices. Am J Clin Pathol 1980; 73: 55-62.
26. **Pearson TC, Guthrie DL**. Trapped plasma in the microhematocrit. Am J Clin Pathol 1982; 78: 770-772.
27. **England JM, Walford DM, Waters DA**. Re-assessment of the reliability of the haematocrit. Br J Haematol 1972; 23: 247-256.
28. **D'Onofrio G, Mistretta G, Giordano G, Zini G**. Erythropoietic function assessment: Development of methodology-the Sysmex XE-2100TM. Infusion Therapy and Transfusion Medicine 2001; 28: 285-291.
29. **Van den Bossche J, Devreese K, Malfait R, Van de Vyvere M, Wauters A, Neeis H, et al.** Reference intervals for a complete blood count determined on different automated haematology analysers: Abx Pentra 120 Retic, Coulter Gen-S, Sysmex SE 9500, Abbott Cell Dyn 4000 and Bayer Advia 120. Clin Chem Lab Med 2002; 40: 69-73.
30. **Campuzano-Maya G**. Alteraciones del hemograma relacionadas con los contadores de células. Medicina & Laboratorio 2005; 11: 363-384.
31. **Bryner MA, Houwen B, Westengard J, Klein O**. The spun micro-haematocrit and mean red cell volume are affected by changes in the oxygenation state of red blood cells. Clin Lab Haematol 1997; 19: 99-103.
32. **Lewis SM**. Standardization and harmonization of the blood count: the role of International Committee for Standardization in Haematology (ICSH). Eur J Haematol Suppl 1990; 53: 9-13.
33. **International Committee for Standardization in Haematology; Expert Panel on Haemoglobinometry**. Recommendations for reference method for haemoglobinometry in human blood (ICSH standard 1986) and specifications for international haemiglobincyanide reference preparation (3rd edition). Clin Lab Haematol 1987; 9: 73-79.
34. **Kickler TS**. Clinical analyzers. Advances in automated cell counting. Anal Chem 1999; 71: 363R-365R.
35. **Nakul-Aquaronne D, Sudaka-Sammarcelli I, Ferrero-Vacher C, Starck B, Bayle J**. Evaluation of the Sysmex Xe-2100 hematology analyzer in hospital use. J Clin Lab Anal 2003; 17: 113-123.

36. **Gagne C, Auger PL, Moorjani S, Brun D, Lupien PJ**. Effect of hyperchylomicronemia on the measurement of hemoglobin. Am J Clin Pathol 1977; 68: 584-586.
37. **Linz LJ**. Elevation of hemoglobin, MCH, and MCHC by paraprotein: how to recognize and correct the interference. Clin Lab Sci 1994; 7: 211-212.
38. **Cornbleet J**. Spurious results from automated hematology cell analyzers. Lab Med 1983; 14: 509-514.
39. **Wintrobe MM**. The size and hemoglobin content of the erythrocyte. J Lab Clin Med 1932; 17: 899-911.
40. **Glader B**. Anemia: general considerations. *In* Wintrobe's clinical hematology, Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F and Glader B. 11th Edition, Lipincott Williams & Wilkins; Philadelphia, PA, USA. 2004; 947-978.
41. **Reed GF, Lynn F, Meade BD**. Use of coefficient of variation in assessing variability of quantitative assays. Clin Diagn Lab Immunol 2002; 9: 1235-1239.
42. **Williams LJ**. Cell histograms: New trends in data interpretation and classification. J Med Technol 1984; 1: 189.
43. **Beautyman W, Bills T**. Osmotic error in red cell measurements of red cell. Lancet 1974; 2: 905-906.
44. **Savage RA, Hoffman GC**. Clinical significance of osmotic matrix errors in automated hematology: the frequency of hyperglycemic osmotic matrix errors producing spurious macrocytosis. Am J Clin Pathol 1983; 80: 861-865.
45. **Holt JT, DeWandler MJ, Arvan DA**. Spurious elevation of the electronically determined mean corpuscular volume and hematocrit caused by hyperglycemia. Am J Clin Pathol 1982; 77: 561-567.
46. **Strauchen JA, Alston W, Anderson J, Gustafson Z, Fajardo LF**. Inaccuracy in automated measurement of hematocrit and corpuscular indices in the presence of severe hyperglycemia. Blood 1981; 57: 1065-1067.
47. **Beautyman W, Bills T**. Osmotic error in erythrocyte volume determinations. Am J Hematol 1982; 12: 383-389.
48. **Hodges RE, Sauberlich HE, Canham JE, Wallace DL, Rucker RB, Mejia LA, et al.** Hematopoietic studies in vitamin A deficiency. Am J Clin Nutr 1978; 31: 876-885.
49. **Garcia-Casal MN, Layrisse M, Solano L, Baron MA, Arguello F, Llovera D, et al.** Vitamin A and beta-carotene can improve nonheme iron absorption from rice, wheat and corn by humans. J Nutr 1998; 128: 646-650.
50. **West MS, Wethers D, Smith J, Steinberg M**. Laboratory profile of sickle cell disease: a cross-sectional analysis. The Cooperative Study of Sickle Cell Disease. J Clin Epidemiol 1992; 45: 893-909.
51. **Ballas SK, Larner J, Smith ED, Surrey S, Schwartz E, Rappaport EF**. The xerocytosis of Hb SC disease. Blood 1987; 69: 124-130.
52. **Groner W, Simson E**. Practical guide to modern hematology analyzers. John Wiley and Sons, Chichester, UK. 1995,
53. **Koenn ME, Kirby BA, Cook LL, Hare JL, Hall SH, Barry PM, et al.** Comparison of four automated hematology analyzers. Clin Lab Sci 2001; 14: 238-242.
54. **Cynober T, Mohandas N, Tchernia G.** Red cell abnormalities in hereditary spherocytosis: relevance to diagnosis and understanding of the variable expression of clinical severity. J Lab Clin Med 1996; 128: 259-269.
55. **Michaels LA, Cohen AR, Zhao H, Raphael RI, Manno CS**. Screening for hereditary spherocytosis by use of automated erythrocyte indexes. J Pediatr 1997; 130: 957-960.
56. **Bessman D**. What's an RDW? Am J Clin Pathol 1981; 76: 242-243.
57. **Walters JG, Garrity PF**. RDW-SD and RDW-CV: Their relationship to RBC distribution curves and anisocitosis. Sysmex J Intern 1993; 3: 40-46.
58. **Roberts GT, El Badawi SB**. Red blood cell distribution width index in some hematologic diseases. Am J Clin Pathol 1985; 83: 222-226.
59. **Morgan DL, Peck SD**. The use of red cell distribution width in the detection of iron deficiency in chronic hemodialysis patients. Am J Clin Pathol 1988; 89: 513-515.
60. **Campuzano-Maya G.** Aproximación al diagnóstico etiológico del paciente con anemia. Laboratorio Al Día 1995; 5: 195-204.
61. **Campuzano-Maya G.** Cómo llegar al diagnóstico etiológico del paciente con anemia. Anales de la Academia de Medicina de Medellín 1996; 9: 29-36.
62. **Saxena S, Weiner JM, Carmel R**. Red blood cell distribution width in untreated pernicious anemia. Am J Clin Pathol 1988; 89: 660-663.
63. **McClure S, Custer E, Bessman JD**. Improved detection of early iron deficiency in nonanemic subjects. Jama 1985; 253: 1021-1023.
64. **Patton WN, Cave RJ, Harris RI**. A study of changes in red cell volume and haemoglobin concentration during phlebotomy induced iron deficiency and iron repletion using the Technicon H1. Clin Lab Haematol 1991; 13:
65. **Miguel A, Linares M, Miguel A, Miguel-Borja JM**. Red cell distribution width analysis in differentiation between iron deficiency and thalassemia minor. Acta Haematol 1988; 80: 59.
66. **Han P, Fung KP**. Discriminant analysis of iron deficiency anaemia and heterozygous thalassaemia traits: a 3-dimensional selection of red cell indices. Clin Lab Haematol 1991; 13: 351-362.
67. **Schimenti KJ, Lacerna K, Wamble A, Maston L, Iaffaldano C, Straight M, et al.** Reticulocyte quantification by flow cytometry, image analysis, and manual counting. Cytometry B Clin Cytom 1992; 13: 853-862.
68. **Savage RA, Skoog DP, Rabinovitch A**. Analytic inaccuracy and imprecision in reticulocyte counting: a preliminary report from the College of American Pathologists Reticulocyte Project. Blood Cells 1985; 11: 97-112.
69. **Lee LG, Chen CH, Chiu LA**. Thiazole orange: a new dye for reticulocyte analysis. Cytometry B Clin Cytom 1986; 7: 508-517.
70. **Ferguson DJ, Lee SF, Gordon PA**. Evaluation of reticulocyte counts by flow cytometry in a routine laboratory. Am J Hematol 1990; 33: 13-17.
71. **Riley RS, Ben-Ezra JM, Tidwell A, Romagnoli G.** Reticulocyte analysis by flow cytometry and other techniques. Hematol Oncol Clin North Am 2002; 16: 373-420, vii.
72. **Inoue H**. Overview of automated hematology analyzer XE-2100. Sysmex J Int 1999; 9: 58-64.

73. **D'Onofrio G, Tichelli A, Foures C, Theodorsen L**. Indicators of haematopoietic recovery after bone marrow transplantation: the role of reticulocyte measurements. Clin Lab Haematol 1996; 18 Suppl 1: 45-53.
74. **Grazziutti ML, Dong L, Miceli MH, Cottler-Fox M, Krishna SG, Fassas A, et al.** Recovery from neutropenia can be predicted by the immature reticulocyte fraction several days before neutrophil recovery in autologous stem cell transplant recipients. Bone Marrow Transplant 2006; 37: 403-409.
75. **D'Onofrio G, Kim YR, Schulze S, Lorentz T, Dorner K, Goossens W, et al.** Evaluation of the Abbott Cell Dyn 4000 automated fluorescent reticulocyte measurements: comparison with manual, FACScan and Sysmex R1000 methods. Clin Lab Haematol 1997; 19: 253-260.
76. **Sica S, Sora F, Laurenti L, Piccirillo N, Salutari P, Chiusolo P, et al.** Highly fluorescent reticulocyte count predicts haemopoietic recovery after immunosuppression for severe aplastic anaemia. Clin Lab Haematol 1999; 21: 387-389.
77. **Metzger DK, Charache S**. Flow cytometric reticulocyte counting with thioflavin T in a clinical hematology laboratory. Arch Pathol Lab Med 1987; 111: 540-544.
78. **Brugnara C, Hipp MJ, Irving PJ, Lathrop H, Lee PA, Minchello EM, et al.** Automated reticulocyte counting and measurement of reticulocyte cellular indices. Evaluation of the Miles H*3 blood analyzer. Am J Clin Pathol 1994; 102: 623-632.
79. **Lacombe F, Lacoste L, Vial JP, Briais A, Reiffers J, Boisseau MR, et al.** Automated reticulocyte counting and immature reticulocyte fraction measurement. Comparison of ABX PENTRA 120 Retic, Sysmex R-2000, flow cytometry, and manual counts. Am J Clin Pathol 1999; 112: 677-686.
80. **Weimann A, Lun S, Muller C, Pratschke J, Reinke P, Lun A**. Reticulocytes and their immature fraction do not detect acute rejection after kidney transplantation. Transplant Proc 2007; 39: 514-517.
81. **Grotto HZ, Vigoritto AC, Noronha JF, Lima GA**. Immature reticulocyte fraction as a criterion for marrow engraftment. Evaluation of a semi-automated reticulocyte counting method. Clin Lab Haematol 1999; 21: 285-287.
82. **Yu PH, So CC, Wong KF, Lee KC, Chow CS, Yip LK, et al.** Automated reticulocyte counting--an evaluation of GEN-S, Cell-Dyn 3500 and Cell-Dyn 4000. Clin Lab Haematol 1999; 21: 145-147.
83. **Canals C, Remacha AF, Sarda MP, Piazuelo JM, Royo MT, Romero MA**. Clinical utility of the new Sysmex XE 2100 parameter - reticulocyte hemoglobin equivalent - in the diagnosis of anemia. Haematologica 2005; 90: 1133-1134.
84. **Brugnara C, Schiller B, Moran J**. Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret He) and assessment of iron-deficient states. Clin Lab Haematol 2006; 28: 303-308.
85. **Goodnough LT, Skikne B, Brugnara C**. Erythropoietin, iron, and erythropoiesis. Blood 2000; 96: 823-833.
86. **Fishbane S, Shapiro W, Dutka P, Valenzuela OF, Faubert J**. A randomized trial of iron deficiency testing strategies in hemodialysis patients. Kidney Int 2001; 60: 2406-2411.
87. **Sapojnikov M, Veksler A, Yagil Y, Kogan J, Turkot S, Boris G, et al.** Hemodynamic effects of anemia correction by recombinant human erythropoietin in predialysis patients with renal failure. Ren Fail 2005; 27: 199-203.
88. **Tsuchiya K, Saito M, Okano-Sugiyama H, Nihei H, Ando M, Teramura M, et al.** Monitoring the content of reticulocyte hemoglobin (CHr) as the progression of anemia in nondialysis chronic renal failure (CRF) patients. Ren Fail 2005; 27: 59-65.
89. **Garzia M, Di Mario A, Ferraro E, Tazza L, Rossi E, Luciani G, et al.** Reticulocyte Hemoglobin Equivalent: An Indicator of Reduced Iron Availability in Chronic Kidney Diseases during Erythropoietin Therapy. Lab Hematol 2007; 13: 6-11.
90. **Brugnara C, Laufer MR, Friedman AJ, Bridges K, Platt O**. Reticulocyte hemoglobin content (CHr): early indicator of iron deficiency and response to therapy. Blood 1994; 83: 3100-3101.
91. **Brugnara C, Zelmanovic D, Sorette M, Ballas SK, Platt O**. Reticulocyte hemoglobin: an integrated parameter for evaluation of erythropoietic activity. Am J Clin Pathol 1997; 108: 133-142.
92. **Brugnara C**. Use of reticulocyte cellular indices in the diagnosis and treatment of hematological disorders. Int J Clin Lab Res 1998; 28: 1-11.
93. **Brugnara C, Zurakowski D, DiCanzio J, Boyd T, Platt O**. Reticulocyte hemoglobin content to diagnose iron deficiency in children. Jama 1999; 281: 2225-2230.
94. **Brugnara C**. Reticulocyte cellular indices: a new approach in the diagnosis of anemias and monitoring of erythropoietic function. Crit Rev Clin Lab Sci 2000; 37: 93-130.
95. **Eisenstaedt R, Penninx BW, Woodman RC**. Anemia in the elderly: Current understanding and emerging concepts. Blood Rev 2006;
96. **Pujade-Lauraine E, Topham C**. Once-weekly treatment of anemia in patients with cancer: a comparative review of epoetins. Oncology 2005; 68: 122-129.
97. **Vaupel P, Dunst J, Engert A, Fandrey J, Feyer P, Freund M, et al.** Effects of recombinant human erythropoietin (rHuEPO) on tumor control in patients with cancer-induced anemia. Onkologie 2005; 28: 216-221.
98. **Giles I**. Hematology automation aids in athletic testing. MLO Med Lab Obs 2005; 37: 22, 24.
99. **Billett HH, Fabry ME, Nagel RL**. Hemoglobin distribution width: a rapid assessment of dense red cells in the steady state and during painful crisis in sickle cell anemia. J Lab Clin Med 1988; 112: 339-344.
100. **Liu TC, Seong PS, Lin TK**. The erythrocyte cell hemoglobin distribution width segregates thalassemia traits from other nonthalassemic conditions with microcytosis. Am J Clin Pathol 1997; 107: 601-607.
101. **Conway AM, Vora AJ, Hinchliffe RF**. The clinical relevance of an isolated increase in the number of circulating hyperchromic red blood cells. J Clin Pathol 2002; 55: 841-844.
102. **Pierre RV**. Peripheral blood film review. The demise of the eyecount leukocyte differential. Clin Lab Med 2002; 22: 279-297.

103. **Castro OL, Haddy TB, Rana SR**. Age- and sex-related blood cell values in healthy black Americans. Public Health Rep 1987; 102: 232-237.

104. **Wolach B, Ashkenazi M, Grossmann R, Gavrieli R, Friedman Z, Bashan N, et al.** Diurnal fluctuation of leukocyte G6PD activity. A possible explanation for the normal neutrophil bactericidal activity and the low incidence of pyogenic infections in patients with severe G6PD deficiency in Israel. Pediatr Res 2004; 55: 807-813.

105. **Lewis SM**. Reference ranges and normal value. *In* Dacie and Lewis practical haematology, Lewis SM, Bain BJ and Bates I. 5th edition, Churchill Livingston; Philadelphia, PA, USA. 2006; 11-24.

106. **Balloch AJ, Cauchi MN**. Reference ranges for haematology parameters in pregnancy derived from patient populations. Clin Lab Haematol 1993; 15: 7-14.

107. **Jia EZ, Yang ZJ, Yuan B, Zang XL, Wang RH, Zhu TB, et al.** Relationship between leukocyte count and angiographical characteristics of coronary atherosclerosis. Acta Pharmacol Sin 2005; 26: 1057-1062.

108. **Futterman LG, Lemberg L**. The leukocyte count, a measure and predictor of coronary events. Am J Crit Care 2007; 16: 401-404.

109. **Barnard DF, Carter AB, Crosland-Taylor PJ, Stewart JW**. An evaluation of the Coulter model S. J Clin Pathol Suppl Coll Pathol 1969; 3: 26-33.

110. **Sharp AA, Ballard BC**. An evaluation of the Coulter S counter. J Clin Pathol 1970; 23: 327-335.

111. **Houwen B**. The differential cell count. Lab Hematol 2001; 7: 89100.

112. **Cornbleet J, Kessinger S**. Evaluation of Coulter S-Plus three-part differential in population with a high prevalence of abnormalities. Am J Clin Pathol 1985; 84: 620-626.

113. **Orser B**. Hematology quality control and the Coulter S-Plus II. Am J Med Technol 1983; 49: 643-647.

114. **Griswold DJ, Champagne VD**. Evaluation of the Coulter S-Plus IV three-part differential in an acute care hospital. Am J Clin Pathol 1985; 84: 49-57.

115. **Kalish RJ, Becker K**. Evaluation of the Coulter S-Plus V three-part differential in a community hospital, including criteria for its use. Am J Clin Pathol 1986; 86: 751-755.

116. **Pagliuca A, Hambley H, Mufti GJ**. Coulter S Plus STKR histograms detect spurious elevation of leucocyte and platelet counts associated with cryoglobulinaemia. Blut 1989; 59: 396-397.

117. **Smeets EH, van Wersch JW**. Performance of a three-part dif impedance cytometer (Sysmex E-4000) in comparison with a cytochemical cytometer (Technicon H 6000). J Clin Chem Clin Biochem 1988; 26: 531-540.

118. **Payne BA, Pierre RV, Lee WK**. Evaluation of the Toa E-5000 Automated Hematology Analyzer. Am J Clin Pathol 1987; 88: 51-57.

119. **Hinchliffe RF, Laycock BJ, Clark SJ, Morton J, Anderson LM, Lilleyman JS**. An evaluation of the Sequoia-Turner Cell Dyn 900. Clin Lab Haematol 1985; 7: 157-165.

120. **Simmons A, Leaverton P, Elbert G**. Normal laboratory values for differential white cell counts established by manual and automated cytochemical methods (Hemalog D-TM). J Clin Pathol 1974; 27: 55-58.

121. **Hanscheid T, Pinto BG, Cristino JM, Grobusch MP**. Malaria diagnosis with the haematology analyser Cell-Dyn 3500: What does the instrument detect? Clin Lab Haematol 2000; 22: 259-261.

122. **Huh J, Jung J, Yoon H, Chung W**. Pseudoeosinophilia associated with malaria infection determined in the Sysmex XE-2100 hematology analyzer. Ann Hematol 2005; 84: 400-402.

123. **ICSH**. Recommended methods for the visual determination of white cell and platelet counts. 1988, WHO LAB 88, 3. 1988;

124. **Langford K, Luchtman-Jones L, Miller R, Walck D**. Performance evaluation of the Sysmex XT-2000i automated hematology analyzer. Lab Hematol 2003; 9: 29-37.

125. **Briggs C, Kunka S, Machin SJ**. The most accurate platelet count on the Sysmex XE-2100. Optical or impedance? Clin Lab Haematol 2004; 26: 157-158.

126. **Stanworth SJ, Denton K, Monteath J, Patton WN**. Automated counting of platelets on the Bayer ADVIA 120 analyser. Clin Lab Haematol 1999; 21: 113-117.

127. **Picard F, Gicquel C, Marnet L, Guesnu M, Levy JP**. Preliminary evaluation of the new hematology analyzer COULTER GEN-S in a university hospital. Clin Chem Lab Med 1999; 37: 681-686.

128. **Grimaldi E, Scopacasa F**. Evaluation of the Abbott CELL-DYN 4000 hematology analyzer. Am J Clin Pathol 2000; 113: 497-505.

129. **Peng L, Gao X, Jiang H, Peng Z, Su J**. Laboratory evaluation of the Sysmex SE-9500 automated haematology analyser. Clin Lab Haematol 2001; 23: 237-242.

130. **Sandhaus LM, Osei ES, Agrawal NN, Dillman CA, Meyerson HJ**. Platelet counting by the Coulter LH 750, Sysmex XE 2100, and Advia 120: a comparative analysis using the RBC/platelet ratio reference method. Am J Clin Pathol 2002; 118: 235-241.

131. **Harris N, Jou JM, Devoto G, Lotz J, Pappas J, Wranovics D, et al.** Performance evaluation of the ADVIA 2120 hematology analyzer: an international multicenter clinical trial. Lab Hematol 2005; 11: 62-70.

132. **Johannessen B, Roemer B, Flatmoen L, Just T, Aarsand AK, Scott CS**. Implementation of monoclonal antibody fluorescence on the Abbott CELL-DYN Sapphire haematology analyser: evaluation of lymphoid, myeloid and platelet markers. Clin Lab Haematol 2006; 28: 84-96.

133. **Campuzano-Maya G**. Trombocitopenia: más importante que encontrarla es saber porqué se presenta. Medicina & Laboratorio 2007; 13: 111-125.

134. **Briggs C, Harrison P, Machin SJ**. Continuing developments with the automated platelet count. Int J Lab Hematol 2007; 29: 77-91.

135. **Onder O, Weinstein A, Hoyer LW**. Pseudothrombocytopenia caused by platelet agglutinins that are reactive in blood anticoagulated with chelating agents. Blood 1980; 56: 177-182.

136. **Lombarts AJ, de Kieviet W**. Recognition and prevention of pseudothrombocytopenia and concomitant pseudoleukocytosis. Am J Clin Pathol 1988; 89: 634-639.

137. **Ahmed P, Minnich V, Michael JM**. Platelet satellitosis with spurious thrombocytopenia and neutropenia. Am J Clin Pathol 1978; 69: 473-474.

138. **Bodensteiner D, Talley R, Rosenfeld C**. Platelet satellitism: a possible mechanism. South Med J 1987; 80: 459-461.

139. **Cunningham VL, Brandt JT**. Spurious thrombocytopenia due to EDTA-independent cold-reactive agglutinins. Am J Clin Pathol 1992; 97: 359-362.

140. **Threatte GA**. Usefulness of the mean platelet volume. Clin Lab Med 1993; 13: 937-950.

141. **Jackson SR, Carter JM**. Platelet volume: laboratory measurement and clinical application. Blood Rev 1993; 7: 104-113.

142. **Trowbridge EA, Martin JF**. The platelet volume distribution: a signature of the prethrombotic state in coronary heart disease? Thromb Haemost 1987; 58: 714-717.

143. **Bath PM, Butterworth RJ**. Platelet size: measurement, physiology and vascular disease. Blood Coagul Fibrinolysis 1996; 7: 157-161.

144. **Wiwanitkit V**. Plateletcrit, mean platelet volume, platelet distribution width: its expected values and correlation with parallel red blood cell parameters. Clin Appl Thromb Hemost 2004; 10: 175-178.

145. **Kaito K, Otsubo H, Usui N, Yoshida M, Tanno J, Kurihara E, et al.** Platelet size deviation width, platelet large cell ratio, and mean platelet volume have sufficient sensitivity and specificity in the diagnosis of immune thrombocytopenia. Br J Haematol 2005; 128: 698-702.

146. **Bessman JD, Gardner FH**. Platelet size in thrombocytopenia due to sepsis. Surg Gynecol Obstet 1983; 156: 177-180.

147. **Bessman JD, Gilmer PR, Gardner FH**. Use of mean platelet volume improves detection of platelet disorders. Blood Cells 1985; 11: 127-135.

148. **Macchi I, Chamlian V, Sadoun A, Le Dirach A, Guilhot J, Guilhot F, et al.** Comparison of reticulated platelet count and mean platelet volume determination in the evaluation of bone marrow recovery after aplastic chemotherapy. Eur J Haematol 2002; 69: 152-157.

149. **Bessman JD**. The relation of megakaryocyte ploidy to platelet volume. Am J Hematol 1984; 16: 161-170.

150. **Berg SL, Steuber CP, Poplack DG, 1155-1162**. Clinical manifestations of acute lymphoblastic leukemia. *In* Hematology. Basic principles and practice, Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, et al. 4th edition, Elseiver, Inc; Philadelphia, Pennsylvania. 2005; 1155-1162.

151. **Miller KB, Daoust PR**. Clinical manifestations of acute myeloid leukemia. *In* Hematology. Basic principles and practice, Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, et al. 4th edition, Elseiver, Inc; Philadelphia, Pennsylvania. 2005; 1071-1097.

152. **De Angelo DJ, R.M. S**. Myelodysplastic syndromes: Biology and treatment. *In* Hematology. Basic principles and practice, Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, et al. 4th edition, Elseiver, Inc; Philadelphia, Pennsylvania. 2005; 1195-1208.

153. **Patel DV, Rai KR**. Chronic lymphocytic leukemia. *In* Hematology. Basic principles and practice, Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, et al. 4th edition, Elseiver, Inc; Philadelphia, Pennsylvania. 2005; 1437-1454.

154. **Zakarija A, Peterson LC, Tallman MS**. Hairy cell leukemia. *In* Hematology. Basic principles and practice, Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, et al. 4th edition, Elseiver, Inc; Philadelphia, Pennsylvania. 2005; 1455-1465.

155. **Karpatkin S, Freedman ML**. Hypersplenic thrombocytopenia differentiated from increased peripheral destruction by platelet volume. Ann Intern Med 1978; 89: 200-203.

156. **Osselaer JC, Jamart J, Scheiff JM**. Platelet distribution width for differential diagnosis of thrombocytosis. Clin Chem 1997; 43: 1072-1076.

157. **Bessman JD, Williams LJ, Gilmer PR, Jr.** Platelet size in health and hematologic disease. Am J Clin Pathol 1982; 78: 150-153.

158. **Nelson RB, 3rd, Kehl D**. Electronically determined platelet indices in thrombocytopenic patients. Cancer 1981; 48: 954-956.

159. **Beyan C, Kaptan K, Ifran A**. Platelet count, mean platelet volume, platelet distribution width, and plateletcrit do not correlate with optical platelet aggregation responses in healthy volunteers. J Thromb Thrombolysis 2006; 22: 161-164.

160. **Abe Y, Wada H, Sakakura M, Nishioka J, Tomatsu H, Hamaguchi Y, et al.** Usefulness of fully automated measurement of reticulated platelets using whole blood. Clin Appl Thromb Hemost 2005; 11: 263-270.

161. **Ault KA, Rinder HM, Mitchell J, Carmody MB, Vary CP, Hillman RS**. The significance of platelets with increased RNA content (reticulated platelets). A measure of the rate of thrombopoiesis. Am J Clin Pathol 1992; 98: 637-646.

162. **Richards EM, Baglin TP**. Quantitation of reticulated platelets: methodology and clinical application. Br J Haematol 1995; 91: 445-451.

163. **O'Malley CJ, Rasko JE, Basser RL, McGrath KM, Cebon J, Grigg AP, et al.** Administration of pegylated recombinant human megakaryocyte growth and development factor to humans stimulates the production of functional platelets that show no evidence of in vivo activation. Blood 1996; 88: 3288-3298.

164. **Nakamura T, Uchiyama S, Yamazaki M, Okubo K, Takakuwa Y, Iwata M**. Flow cytometric analysis of reticulated platelets in patients with ischemic stroke. Thromb Res 2002; 106: 171-177.

165. **McCabe DJ, Harrison P, Sidhu PS, Brown MM, Machin SJ**. Circulating reticulated platelets in the early and late phases after ischaemic stroke and transient ischaemic attack. Br J Haematol 2004; 126: 861-869.

166. **Lakkis N, Dokainish H, Abuzahra M, Tsyboulev V, Jorgensen J, De Leon AP, et al.** Reticulated platelets in acute coronary syndrome: a marker of platelet activity. J Am Coll Cardiol 2004; 44: 2091-2093.

167. **Zucker ML, Murphy CA, Rachel JM, Martinez GA, Abhyankar S, McGuirk JP, et al.** Immature platelet fraction as a predictor of platelet recovery following hematopoietic progenitor cell transplantation. Lab Hematol 2006; 12: 125-130.

168. **Takami A, Shibayama M, Orito M, Omote M, Okumura H, Yamashita T, et al.** Immature platelet fraction for prediction of platelet engraftment after allogeneic stem cell transplantation. Bone Marrow Transplant 2007; 39: 501-507.

169. **Wang C, Smith BR, Ault KA, Rinder HM.** Reticulated platelets predict platelet count recovery following chemotherapy. Transfusion 2002; 42: 368-374.

170. **Stohlawetz P, Stiegler G, Knobl P, Hocker P, Panzer S.** The rise of reticulated platelets after intensive chemotherapy for AML reduces the need for platelet transfusions. Ann Hematol 1999; 78: 271-273.

171. **Kienast J, Schmitz G.** Flow cytometric analysis of thiazole orange uptake by platelets: a diagnostic aid in the evaluation of thrombocytopenic disorders. Blood 1990; 75: 116-121.

La Visitación, Diorama
Gabriel Ripoll J., Cirujano Plástico.
Medellín, Colombia