

**CAT. 64845**

### FINALIDAD

Los componentes del kit son soluciones para tinciones hematológicas, con características únicas en cada método que resaltan usos específicos según el origen de la muestra.

Con la tinción de Hemocolorante rápido se obtiene una diferenciación sanguínea, en frotis de sangre similar al Wright o Giemsa, su ventaja es el tiempo en que se realiza la tinción (15 segundos).

La característica fundamental del colorante Wright es que permite una diferenciación con detalles finos en sus estructuras en tanto con el colorante Giemsa además de su utilidad en muestras de tejido tiene su uso específico en la identificación de parásitos de malaria. Otras técnicas de tinción hematológicas aportan información adicional sobre las células sanguíneas como la prueba de drepanocitos que permite identificar anemias de hemáties falciformes y la tinción de reticulocitos permite conocer la actividad eritropoyética medular. Para uso exclusivo de diagnóstico *in vitro*.

### FUNDAMENTO

Las tinciones diferenciales hematológicas son soluciones policromáticas, una variante moderna de los colorantes de Romanowsky; donde se combinan colorantes básicos (Azul de Metileno y sus productos de oxidación, los azules) con un colorante ácido (Eosina Amarillenta). La unión de estos colorantes catiónicos mediante un enlace iónico, forma un colorante "neutral" donde el azul de metileno tiñe sustancias basófilas como el RNA y ciertas proteínas citoplasmáticas y la eosina tiñe sustancias eosinófilas.

Los reticulocitos son hemáties jóvenes que contienen restos de ácido ribonucleico (ARN) ribosomal y continúan sintetizando hemoglobina después de la pérdida del núcleo. Los ribosomas tienen la propiedad de reaccionar con colorantes vitales como el azul de cresil brillante, se forma un precipitado azul de los gránulos o filamentos en el interior de las células que son visibles al microscopio óptico.

### CONTENIDO DE REACTIVOS

Producto	Cat.	Presentación	Determinaciones
Wright Colorante	840	60 mL	30
Buffer pH 6.4	1317	60 mL	
Giemsa	6303	40 mL	30
Buffer pH 6.8	1318	100 mL	
Azul de cresil brillante	669	60 mL	30
Solución fijadora	5480	100 mL	100
Hemocolorante I	5481	100 mL	
Hemocolorante II	5482	100 mL	
Drepanocell	5483	6 Viales	
			120

### MATERIAL ADICIONAL REQUERIDO NO INCLUIDO

1. Portaobjetos Cat. 75511
2. Aceite de inmersión Cat. 64287
3. Metanol Cat. 912
4. Colorante May Grunwald Cat. 760
5. Agua destilada Cat. 7577

### ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

1. Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta a temperatura 15-30 °C.
2. Mantener las muestras en lugar fresco y seco protegidos de la luz.
3. Exposición a la humedad del ambiente a vapores ácidos o alcalinos puede deteriorar los reactivos.

### MANEJO DE LA MUESTRA

1. Para las muestras de sangre, utilice anticoagulantes con EDTA.
2. La extensión debe realizarse dentro de las primeras 2 horas de realizada la punción, de lo contrario la sangre debe mantenerse de 2-8 °C, mezclar bien antes de usarla, de otra forma el anticoagulante producirá hinchamiento nuclear con falso aumento de bandas, vacuolización citoplasmática y aparición de diversos sedimentos.<sup>3</sup>

### SUGERENCIAS PARA LA TINCIÓN

1. Para una valoración adecuada de la sangre periférica son importantes algunos aspectos como, la técnica del extendido, la tinción y el sitio del frotis donde se realiza la valoración.
2. Hacer extensiones delgadas para ayudar a una diferenciación más óptima.
3. Los tiempos de tinción aquí descritos son una sugerencia quedando a elección del analista ajustarlos según sus preferencias.

### TINCIÓN CON HEMOCOLORANTE

El equipo consta de una solución fijadora y dos soluciones colorantes amortiguadas, cuyos componentes dan por resultado una tinción clásica del tipo Romanowsky que lo convierten en un proceso diferencial rápido de tan sólo 15 segundos.

### PROCEDIMIENTO para frotis sanguíneos

1. Realizar los frotis sanguíneos, dejar secar completamente antes de teñir.
2. Sumergir el frotis en la solución fijadora cat. 5480, 5 veces por 1 segundo cada vez, dejar escurrir el exceso.
3. Sumergir el frotis en el Hemocolorante I cat. 5481, 5 veces por 1 segundo cada vez, dejar escurrir el exceso.
4. Sumergir el frotis en el Hemocolorante II cat. 5482, 5 veces por 1 segundo cada vez.
5. Lavar con agua destilada hasta retirar el exceso de colorante y dejar secar.
6. Observar al microscopio con objetivo de 100 X, utilizar aceite de inmersión. Consultar tabla 1 para interpretación de resultados.

**NOTA:** Son importantes las inmersiones, (sumergir y sacar), de lo contrario se tendrán deficiencias de tinción si solo se introduce el frotis. La coloración de algunos componentes celulares hidrosolubles es deficiente, tal es el caso de los basófilos donde los gránulos pueden aparecer ligeramente decolorados.

### TINCIÓN DE WRIGHT

Para esta tinción están disponibles el colorante Wright cat. 840 y la solución buffer 6.4 cat. 1317

### PROCEDIMIENTO

1. Hacer los extendidos delgados, dejar secar completamente, fijar los frotis con metanol y dejar secar.
2. Colocar los frotis secos en una gradilla de tinción.
3. Cubrir el frotis con aproximadamente 2 mL del colorante Wright durante **3-4 minutos**.
4. Agregar suavemente Buffer de Fosfatos pH 6.4 en la misma cantidad que el colorante, adicionar por toda la extensión, mezclar evitando derrames (puede soplar con una pipeta o una perilla de succión). Dejar **5 – 6 minutos**, se forma una escarcha metálica.
5. Hacer enjuagues con agua destilada en forma horizontal, luego tomando la placa en forma vertical, continuar el lavado hasta retirar el excedente de colorante. Un lavado más prolongado reducirá la coloración de las células.
6. Dejar secar al aire y observar al microscopio con objetivo 100 X. Consultar tabla 1 para interpretación de resultados.

FABRICADO Y ACONDICIONADO POR: HYCEL DE MEXICO, S.A. DE C.V.

www.hycel.com.mx

PLANTA VENTAS Y ASESORIA  
Zoquiapan 154, Col. Atemajac del Valle  
CP. 45190 Zapopan Jal., Tel. (33) 38531722 con 6 líneas

Pag. 1 de 2

VENTAS, ASESORIA Y ALMACEN  
Ferrocarril de Acambaro # 3 Zona industrial Alee Blanco  
53570 Naucalpan de Juárez Edo. De México. Tel. (55) 5208 0026 con 6 líneas

Versión: 3 Clave: 210125 VR/BG  
Fecha de aprobación: 21-Mar-25  
Aprobado por: Responsable Sanitario

**TINCIÓN CON GIEMSA**

Utilizar el buffer pH 6.8 catálogo 1318 para la tinción con el colorante de Giemsa catálogo 6303.

**PROCEDIMIENTO**

1. Los frotis deben estar fijados con metanol y secos, realizar la tinción en gradilla.
2. Hacer una dilución 1:10 colorante-buffer, esto es mezclar 1 mL de colorante giemsa con 9 mL de buffer pH 6.8, mezclar y cubrir los frotis con la mezcla, dejar actuar 15-20 minutos.
3. Enjuagar los frotis con agua destilada durante 5 segundos y dejarlos secar al aire.
4. Observar al microscopio con objetivo de 100 X. Utilizar aceite de inmersión. Consultar tabla 1 para interpretación de resultados.

**NOTA:** Para mejores resultados en la tinción de Giemsa utilizar colorante May grumwald cat. 760. No disponible en este kit.

**INTERPRETACION DE RESULTADOS**

La coloración de las estructuras celulares en las tinciones Hemocolorante, Wright y Giemsa son similares.

**INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

**Tabla 2**

Valores de referencia: 0.5-1.5 % o 24-84 x10 <sup>3</sup> /L	
Recien nacidos: 2.5-6.5 % valor que disminuye hacia la segunda semana de vida	
CÉLULAS	COLOR
Reticulocitos	Filamentos color azul claro
Eritrocitos	Azul pálido ó verde - azul

**PRUEBA DE INDUCCIÓN DE DREPANOCITOS (Drepanocell)**

La prueba se realiza con metabisulfito de sodio, agente reductor fuerte que desoxigena los eritrocitos presentes en la hemoglobina Hs, esto hace que adquieran la forma de media luna por lo que la inducción de drepanocitos es positiva.



Disolver el contenido del vial de NaS<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en 1 mL de agua destilada, mezclar perfectamente.

**PROCEDIMIENTO.**

1. Adicionar a un vial de Drepanocell, 1mL de agua destilada, disolver y mezclar.
2. Tomar 1 gota de la solución, depositarla en un portaobjeto, colocar el mismo volumen de sangre, mezclar.
3. Colocar un cubreobjetos, limpiar el excedente con papel, ejerciendo una suave presión sobre el cubreobjetos.
4. Sellar la preparación con vaselina o cera líquida para evitar la descomposición de la preparación.
5. Proceder con una muestra control sin utilizar el metabisulfito de sodio.
6. Dejar reaccionar la gota de sangre con el metabisulfito de sodio por 30 minutos.
7. Examinar al microscopio en seco fuerte (100 X) a los 30 minutos, 1 hora, 2 horas y 24 horas para informar el resultado como positivo o negativo.

**INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

**Tabla 3**

Resultado	Interpretación	Imagen
<b>Negativo</b> Célula normal	Los eritrocitos se observan en estado normal (rosa salmón, redondos y cóncavos)	
<b>Positivo</b> Célula falciforme	Se observa la presencia de células hemáticas falciformes (forma de hoz).	

**BIBLIOGRAFIA**

1. HEMATOLOGÍA, Fisiopatología y Diagnóstico, Ivan Palomo, Jaime Pereira, Julia Palma, Ed. Universidad de Talca.
2. Hematología. La sangre y sus enfermedades. 2ª ED. José Carlos Jaime Perez, David Gómez A.
3. Joan Luis Vives, Joseph Luis Aguilar. Técnicas de laboratorio en hematología; Pág. 12-14, Ed. masón – Salvat medicina.
4. Diagnóstico Clínico por el Laboratorio, I. Davisohn, J.B.Henry, Salvat, 5ª Edición, pag. 229.
5. <http://www.siplaslab.com/drepanocitos-celulas-falciformes/>
6. Tesis: Detección de Hemoglobina S, por HPLC vs Electroforesis y su asociación con la inducción de drepanocitos. Guadalupe Garcia Martinez.

**Tabla 1**

Células sanguíneas	COLOR	Técnica de Giemsa Parásitos
Eritrocitos	Rosa- salmón	Los organismos plasmodium se observan: <b>Citoplasma:</b> Azul
Nucleos	Purpuras-violetas	
Neutrófilos	gránulos lila-marrón y el citoplasma- rosa pálido	<b>Material nuclear:</b> rojo a púrpura.
Eosinófilos	gránulos-rojo a naranja / magenta y citoplasma azul	
Basófilos	gránulos- púrpura / Azul negrusco	<b>Cromatina:</b> violeta a rojizo.
Linfocitos	citoplasma-azul	
Monocitos	citoplasma-azul gris	<b>Gránulos, inclusiones en eritrocitos infectados:</b> rojos
Plaquetas	Color violeta ó púrpura	

**Tinción con Giemsa:** Los colores nucleares y citoplasmáticos que se observan en los parásitos de malaria también se observarán en los tripanosomas y en cualquier leishmania intracelular presente.

**TINCIÓN DE RETICULOCITOS (AZUL DE CRESIL BRILLANTE)**

La solución está lista para su uso, para mejores resultados filtrar la solución antes de usar.

**PROCEDIMIENTO**

1. En un tubo de ensayo de 12 x 75 mm adicionar 5 gotas de colorante azul de cresil brillante cat. 669 y 5 gotas de sangre, mezclar suavemente y se incubaba 15 minutos a temperatura ambiente, mezclar nuevamente.
2. De esta mezcla de sangre y colorante prepare varios frotis delgados por muestra y deje secar al aire.
3. Escoja una zona del frotis donde no haya superposición de glóbulos rojos y donde la tinción sea perfecta.
4. Observe al microscopio con objetivo de 100 X, utilice aceite de inmersión.
5. Contar los reticulocitos presentes en 1000 eritrocitos. Sacar el porcentaje correspondiente.

**Cálculos**

Este presenta un coeficiente de variación algo elevado por lo que es importante un recuento alto de hemáties, en general se considera la cifra de 12000 hemáties como aceptable para deducir a partir de ella el porcentaje correspondiente a reticulocitos observados.

$$\% \text{ Reticulócitos} = \frac{N_R * 100}{N_H}$$

**N<sub>R</sub>:** Número de reticulócitos

**N<sub>H</sub>:** Número de hemáties observados

**FABRICADO Y ACONDICIONADO POR: HYCEL DE MEXICO, S.A. DE C.V.**

[www.hycel.com.mx](http://www.hycel.com.mx)

VENTAS, ASESORIA Y ALMACEN  
Ferrocarril de Acambaro # 3 Zona industrial Alce Blanco  
53570 Naucalpan de Juárez Edo. De México. Tel. (55) 5208 0026 con 6 líneas

PLANTA VENTAS Y ASESORIA  
Zoquiapan 154, Col. Atemajac del Valle  
CP. 45190 Zapopan Jal., Tel. (33) 38531722 con 6 líneas

**Pag. 2 de 2**  
Versión: 3 Clave: 210125 VR/BG  
Fecha de aprobación: 21-Mar-25  
Aprobado por: Responsable Sanitario