



Algoritmo para el uso de ImageJ: aplicación en la detección de fragilidad osmótica en eritrocitos humanos

Algorithm for the use of ImageJ: Application in the detection of osmotic fragility human erythrocytes

Agramont Morales Natalia* , Quenta Álvarez Daira Beth , Flores Botello Belén Araceli , Carrasco Rosso Marcia Olga , Chavez Lizárraga Georgina

Datos del Artículo

Universidad Católica Boliviana "San Pablo".
Facultad de Ingeniería.
Ingeniería Bioquímica y de Bioprocesos.
Av. 14 de septiembre, calle 2 N°4807.
La Paz, Estado Plurinacional de Bolivia.

***Dirección de contacto:**

Universidad Católica Boliviana "San Pablo".
Facultad de Ingeniería.
Ingeniería Bioquímica y de Bioprocesos.
Av. 14 de septiembre, calle 2 N°4807.
La Paz, Estado Plurinacional de Bolivia.

Natalia Agramont Morales
E-mail address: nagramomt31@gmail.com

Palabras clave:

Algoritmo,
ImageJ,
procesamiento de imágenes,
eritrocitos,
fragilidad osmótica.

J. Selva Andina Res. Soc.
2026; 17(1):14-26.

ID del artículo: [205/JSARS/2025](https://doi.org/10.205/JSARS/2025)

Historial del artículo

Recibido octubre 2025.
Devuelto diciembre 2025.
Aceptado enero 2026.
Disponible en línea, febrero 2026.

Editado por:
**Selva Andina
Research Society**

Keywords:

Algorithm,
ImageJ,
image processing,
erythrocytes,
osmotic fragility.

Resumen

El estudio de las características de los eritrocitos se realiza mediante distintas pruebas, entre ellas la microscopía y el análisis de imágenes. El propósito de este artículo es desarrollar un algoritmo funcional en el software *ImageJ* para identificar las características morfológicas de los eritrocitos y determinar la variación de la fragilidad osmótica cuando estos son expuestos a distintas condiciones. Las imágenes utilizadas fueron observadas mediante un microscopio Leica Aristoplan y capturadas por una cámara Leica DMC6200 conectada al equipo, para posteriormente ser procesadas en el software *ImageJ*. El algoritmo describe de forma ordenada el proceso que se realiza desde la calibración de la imagen hasta la obtención de resultados cuantitativos. Este proceso incluye la calibración según el aumento del microscopio, la corrección de posibles errores en la imagen y la identificación de las células para la obtención de parámetros como el área, el perímetro, la redondez y el diámetro de Feret. La aplicación del algoritmo en *ImageJ* permite un procesamiento de imágenes que facilita la cuantificación morfológica de eritrocitos. El algoritmo presentado es eficiente y reproducible, además puede ser adaptado según las necesidades del usuario. Tras el análisis, se concluye que el algoritmo puede ser modificado según los requerimientos del usuario. En conjunto, el algoritmo facilita el uso de *ImageJ* para la cuantificación morfológica de eritrocitos.

2026. Journal of the Selva Andina Research Society®. Bolivia. Todos los derechos reservados.

Abstract

The study of erythrocyte characteristics is carried out through different tests, including microscopy and image analysis. The purpose of this article is to develop a functional algorithm in the *ImageJ* software to identify the morphological characteristics of erythrocytes and to determine the variation in osmotic fragility when they are exposed to different conditions. The images were obtained using a Leica Aristoplan microscope and captured with a Leica DMC6200 camera connected to the equipment, and subsequently processed in *ImageJ*. The algorithm provides an orderly description of the process, from image calibration to the acquisition of quantitative results. This process includes calibration according to the microscope magnification, correction of possible image errors, and identification of cells to obtain parameters such as area, perimeter, roundness, and Feret's diameter. The application of the algorithm in *ImageJ* enables image processing that facilitates the morphological quantification of erythrocytes. The algorithm presented is efficient and reproducible, and can also be adapted according to user needs. Based on the analysis, it is concluded that the algorithm can be modified depending on specific requirements. Overall, the algorithm facilitates the use of *ImageJ* for the morphological quantification of erythrocytes.

2026. Journal of the Selva Andina Research Society®. Bolivia. All rights reserved.



Introducción

La microscopía fue un factor determinante y relevante para el desarrollo de la investigación en organismos vivos a lo largo de la historia. Tiene su inicio con Robert Hooke en 1665, cuando inventó aparatos con lentes de vidrio para poder realizar la observación, medición y registro de diversos fenómenos, permitiéndole ser el primero en describir la célula y realizar la observación de la estructura de tejidos finos^{1,2}. El microscopio se ha convertido en una herramienta universal utilizada en distintas áreas de investigación, por esto da infinitas posibilidades de estudiar la morfología, composición, estructura y otras características de diversos organismos vivos y materia inorgánica.

Las características de la célula fueron estudiadas durante mucho tiempo; las primeras investigaciones microscópicas de la sangre comenzaron con Marcello Malpighi, quien describió estructuras capilares y tejidos, cuestionando las creencias sobre la composición sanguínea de su época. Posteriormente, Antonie van Leeuwenhoek y Jan Swammerdam observaron al microscopio las células sanguíneas, a las que denominaron “globuli rubri” (glóbulos rojos)³.

Con el desarrollo de nuevas tecnologías, los estudios sobre los glóbulos rojos se han perfeccionado, permitiendo caracterizar su forma, tamaño, densidad, diámetro y color. Estas propiedades son utilizadas en la actualidad para el diagnóstico de diversas enfermedades hematológicas, como las anemias, entre ellas la anemia megaloblástica⁴.

Los eritrocitos son células sanguíneas presentes en todo el organismo, responsables del transporte de oxígeno hacia los tejidos y de la eliminación del dióxido de carbono generado en la respiración celular⁵. Un eritrocito saludable tiene forma de disco bicóncavo con un centro deprimido, carece de núcleo y presenta un color rojo característico debido a su alta concentración de hemoglobina, una proteína rica en

hierro. El diámetro promedio de un eritrocito en una persona adulta oscila entre 7 y 8 μm ⁶.

La forma, dimensiones y características de los eritrocitos observadas al microscopio pueden alterarse en presencia de enfermedades o cambios en sus condiciones fisiológicas. Un ejemplo claro es la anemia falciforme, que provoca la deformación de los eritrocitos en forma de hoz, dificultando su paso por los vasos sanguíneos pequeños y favoreciendo la hemólisis⁷.

Entre estas enfermedades, muchas alteraciones pueden detectarse mediante el análisis morfológico de los eritrocitos, y diferentes técnicas han permitido identificar diversos tipos de anemia según la forma celular. Por otro lado, condiciones como la policitemia (eritrocitosis) pueden reconocerse por el conteo elevado de eritrocitos. Asimismo, la clasificación patológica de estas células puede realizarse mediante observación microscópica^{6,8,9}.

Para mejorar la visualización de las células sanguíneas al microscopio se han desarrollado diversas técnicas de tinción que permiten resaltar sus características morfológicas. Entre las más utilizadas en hematología se encuentran las tinciones de Wright, Giemsa y Leishman, cada una con aplicaciones específicas. La tinción de Wright, por ejemplo, se emplea en frotis sanguíneos para diferenciar los componentes celulares, tiñendo los núcleos de azul y el citoplasma de tonos rosados^{10,11}.

Las tinciones facilitan la visualización de las estructuras celulares al microscopio; sin embargo, para lograr una cuantificación más precisa de estas características se recurre a la captura de imágenes mediante cámaras acopladas al microscopio y a su posterior análisis con software especializado.

El análisis de las diferencias en las imágenes obtenidas es fundamental para identificar variaciones y cambios en sistemas vivos o en estructuras difíciles

de percibir a simple vista. Gracias al desarrollo tecnológico, en la actualidad es posible realizar reconstrucciones tridimensionales de estructuras mediante técnicas como la criomicroscopía electrónica de alta resolución¹². Estos avances han impulsado la ciencia y permitido una comprensión más profunda de los comportamientos y características de los sistemas vivos.

En un principio, los programas informáticos se utilizaban principalmente para el almacenamiento de imágenes. Posteriormente surgieron los primeros programas de edición, como Adobe Photoshop¹³, que fue uno de los primeros en aplicarse a la microscopía para la edición de imágenes. Más adelante se desarrollaron programas más especializados, como *ImageJ* en 1997, derivado del NIH Image¹⁴. En la actualidad, la microscopía permite capturar y almacenar imágenes o videos de los fenómenos observados, estos pueden analizarse mediante software especializado. Entre estos destacan FIJI, *ImageJ*¹⁵, Icy¹⁶, y Orbit¹⁷, que facilitan la identificación y procesamiento de estructuras, permitiendo caracterizarlas de manera más clara¹⁸.

ImageJ es uno de los programas más destacados en el análisis y procesamiento de imágenes, ampliamente utilizado en el ámbito científico¹⁹. Permite un análisis riguroso de datos visuales y resulta especialmente útil en el estudio de sistemas biológicos gracias a su gran variedad de herramientas²⁰. Al ser de código abierto y gratuito, puede utilizarse desde cualquier computadora, lo que facilita su acceso universal. Además, cuenta con instrucciones y funciones que hacen de su uso una experiencia sencilla y práctica²¹.

Para aprovechar al máximo programas libres como *ImageJ*, que facilitan el manejo de la información y el análisis de datos, es necesario estandarizar algoritmos para el estudio de imágenes biológicas, con el fin de simplificar la investigación y el análisis de resultados. Actualmente no existen protocolos estanda-

rizados que describan de manera sistemática el uso de este programa en el análisis de eritrocitos, a pesar de que la observación microscópica es un método comúnmente utilizado para la detección de enfermedades. Sin embargo, se han desarrollado investigaciones que realizan el conteo celular en plataformas como *MATLAB*²² y otras que proponen métodos específicos, como el planteado por Chadha et al.²³.

El objetivo de este artículo es proponer un algoritmo para el análisis de imágenes de eritrocitos, que permita obtener parámetros morfológicos cuantitativos como diámetro, área, redondez y conteo celular mediante el uso del software *ImageJ*.

Materiales y métodos

Preparación del paciente. Previo a la toma de muestras, se realizó un hemograma completo en el laboratorio del Hospital General de La Paz para descartar alteraciones hematológicas que pudieran afectar los resultados. El individuo presentó un hematocrito de 49 %, dentro de los valores normales para su edad y género²⁴. Una vez confirmado el estado saludable, se firmó un consentimiento informado para su participación en el estudio, según lo establecido por el Comité de Bioética de la Universidad Católica Boliviana “San Pablo”, sede La Paz. La investigación se llevó a cabo entre noviembre de 2023 y marzo de 2024.

Toma de muestra. Se obtuvieron muestras de un mismo individuo para evitar la variabilidad de los datos. Durante 5 días consecutivos se extrajo diariamente una muestra de 3 mL de sangre, a una temperatura ambiente de 25° C, colocada en tubos con EDTA como anticoagulante (Vacuette, lote 454217).

Preparación de la muestra previa a la observación. La sangre fue procesada según el método de Alonso-Geli et al.²⁵; se centrifugó a 1000 g durante 10 min para separar el plasma. Posteriormente se tomaron 40 µL del paquete globular restante, que se lavaron en 4

mL de solución de cloruro de sodio (NaCl) (Scharlab S.L., España, lote 11285202). Este procedimiento se repitió con 12 concentraciones distintas de NaCl, 0.0, 0.1, 0.2, 0.25, 0.3, 0.32, 0.36, 0.4, 0.45, 0.55, 0.7 y 0.9 %. Finalmente, las muestras se centrifugaron nuevamente durante 10 min en una centrifugadora (Sigma, Alemania).

Con el paquete globular preparado, se depositó una gota en el portaobjetos, se realizó el frotis extendiendo la muestra y se dejó secar a temperatura ambiente (25° C) durante 30 min²⁶.

Para mejorar la visualización y distinción de los eritrocitos en cada muestra se utilizó el kit de tinción Wright's Dip Stat (Chemical Corporation, Estados Unidos, lote A187), que contiene cuatro soluciones de 250 mL: solución fijadora, tinción eosinada, tinción policromática y solución de enjuague. La muestra se tiñó según la técnica descrita por Li *et al.*²⁷. Una vez finalizado el procedimiento, se dejó secar durante 1 h. Finalmente, se añadió una gota de dipex para preservar la preparación a temperatura ambiente y se colocó el cubreobjetos encima.

Observación de la muestra en el microscopio. Las muestras fueron observadas en un microscopio Leica Aristoplan (Alemania) con lentes de 40x, 50x y 100x. Las imágenes se capturaron mediante una cámara Leica DMC6200 Pixel Shift (Alemania), conectada al microscopio. Se registraron imágenes con cada lente, seleccionando el campo que permitiera diferenciar con mayor claridad las características celulares. Una vez finalizada la observación, las imágenes fueron seleccionadas y codificadas para su posterior análisis.

Análisis de muestras en ImageJ. Se utilizó el programa *ImageJ*, descargado desde la red. Una vez instalado, se ingresó a la aplicación en la computadora. Para explorar sus herramientas, se empleó la pestaña *File* → *Open Samples*, que muestra un menú de imágenes preseleccionadas por el programa. Para iniciar el análisis de las muestras, se seleccionó *File* →

Open y se cargó la imagen correspondiente. Las imágenes analizadas se encontraban en formato TIFF, que ofrece mejor calidad para el manejo de detalles; sin embargo, *ImageJ* acepta múltiples formatos como PNG, GIF y JPEG²⁸.

Una vez seleccionada la imagen, se visualizó en la pantalla. En la parte superior de la ventana, debajo de la barra de herramientas, se mostraban el nombre, formato, resolución, sistema de color y tamaño del archivo (Figura 1). Al mover el cursor por la pantalla y seleccionar un punto, aparecían las coordenadas *x* e *y* del área seleccionada; mediante clic derecho o izquierdo se podía aumentar o reducir el tamaño de la ventana de la imagen.

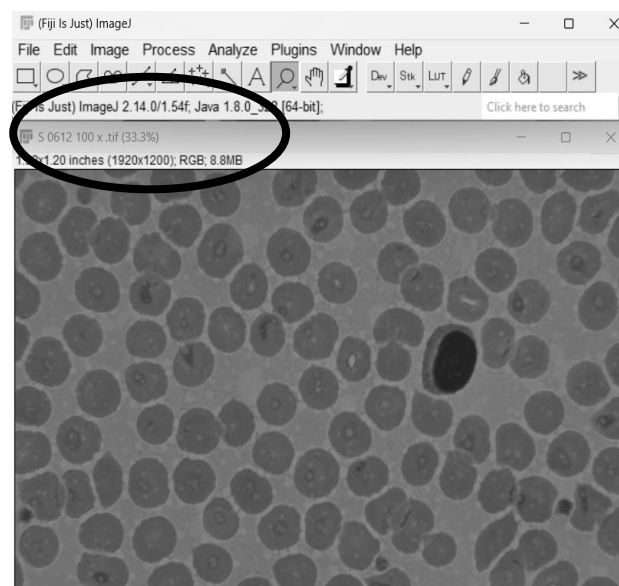


Figura 1 Captura de pantalla del software *ImageJ* que muestra la barra de herramientas disponibles

Calibración de la imagen. Para iniciar el trabajo con la aplicación es necesario calibrar la imagen de acuerdo con las medidas del microscopio. Para ello, durante la observación se debe capturar una imagen de un objeto con dimensiones conocidas, que se utilizará como imagen de referencia. Es indispensable contar con una imagen de referencia para cada lente empleado.

El procedimiento consiste en abrir la imagen de referencia correspondiente al lente, seleccionar la herramienta de línea y trazar una recta sobre el objeto cuya medida se conoce. Luego, en el menú *Analyze* se elige la opción *Set Scale*; en el campo *Known Distance* se introduce la medida conocida y en *Unit of Length* se selecciona la unidad correspondiente, ajustando así la escala al tamaño real de la imagen a analizar. Una vez realizada la calibración, las unidades se mostrarán de acuerdo con las establecidas por el usuario. En las imágenes tomadas con el mismo lente se mantiene la calibración inicial; sin embargo, al cambiar de lente se debe repetir el proceso de calibración (Figura 2).

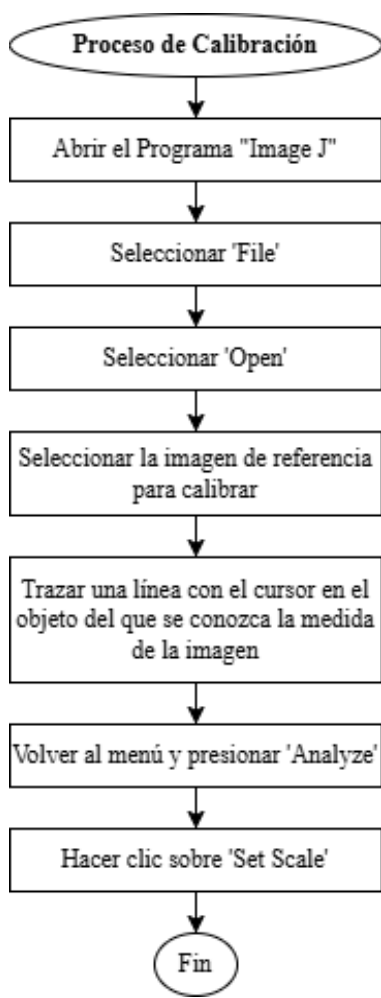


Figura 2 Algoritmo del proceso de calibración de la imagen en el software de *ImageJ*

Procesamiento de la imagen. Una vez realizada la calibración, se abre la imagen a analizar. En el menú se selecciona *Image* → *Adjust* → *Color Threshold*; si no se desea realizar configuraciones adicionales, se cierra la ventana emergente, lo que genera un fondo rojo en la imagen. Posteriormente, en el menú se selecciona *Process* → *Binary* → *Make Binary* (Figura 3), convirtiendo la imagen a blanco y negro. El fondo debe aparecer negro y las células en blanco; si esto no ocurre, se debe ir a *Edit* → *Invert*, lo que invierte los colores y establece el fondo en negro y las células en blanco.

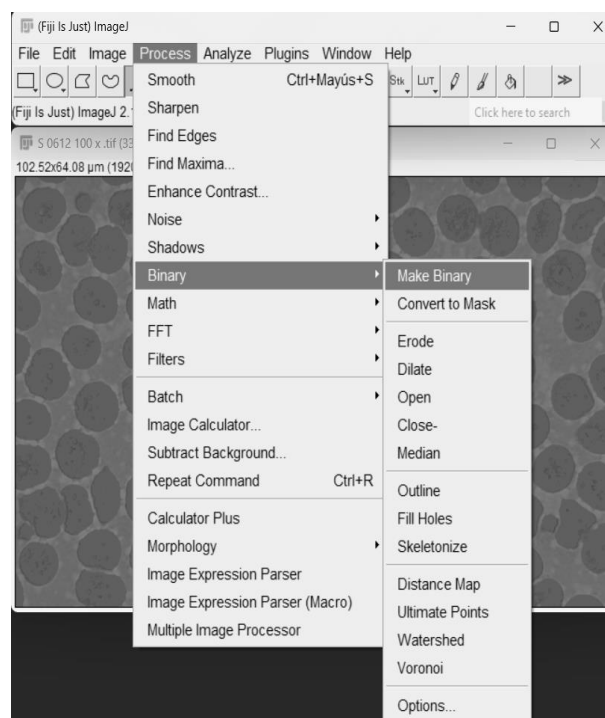


Figura 3 Captura de pantalla del software *ImageJ* de un paso del algoritmo de procesamiento de la imagen

Si las células no pueden distinguirse entre sí, debido a que se encuentran muy próximas, se puede utilizar la herramienta *Erode*, que reduce un píxel del contorno de las áreas blancas correspondientes a los eritrocitos. Finalmente, se selecciona *Process* → *Binary* → *Fill Holes* para garantizar que el cálculo del área se realice de manera completa (Figura 4).

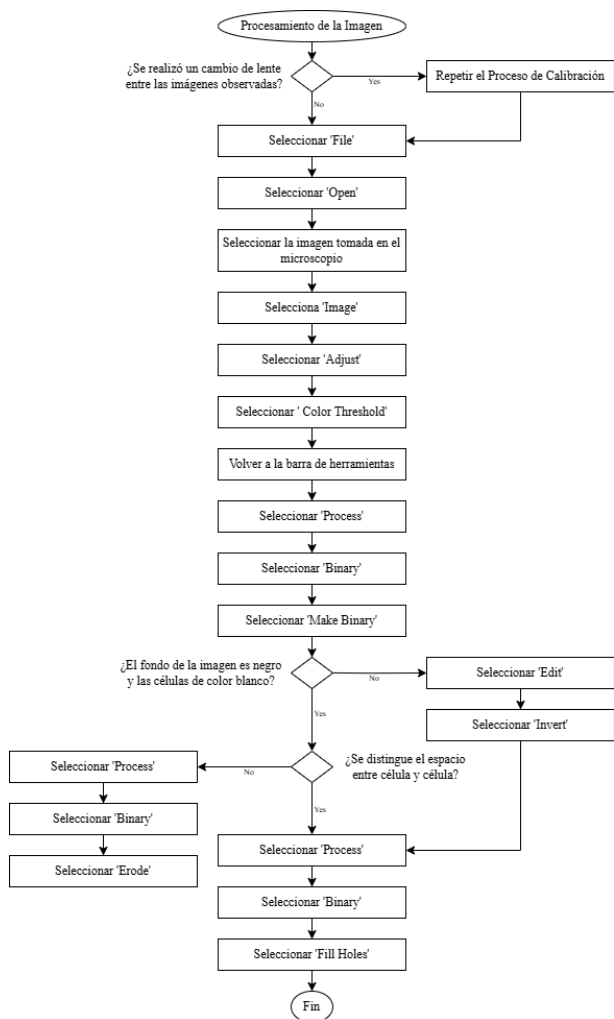


Figura 4 Algoritmo del procesamiento de la imagen en el software de ImageJ

Visualización de resultados. Primero, se selecciona la opción Analyze → Set Measurements y se debe asegurar que las opciones requeridas estén activadas. En este caso se utilizaron: Area, que determina el área de la célula; Perimeter, que calcula el perímetro de cada célula; Shape Descriptors, parámetro que indica, en un rango de 0 a 1, la similitud con una forma circular; Feret's Diameter, que mide el diámetro en una dirección específica; y Add to Overlay, que asigna un número a cada célula en la imagen según el conteo realizado. Finalmente, es necesario verificar que en la opción Redirect to para que aparezca el nombre de la imagen en la que se está trabajando,

para asegurar que el procesamiento se realice correctamente (Figura 5).

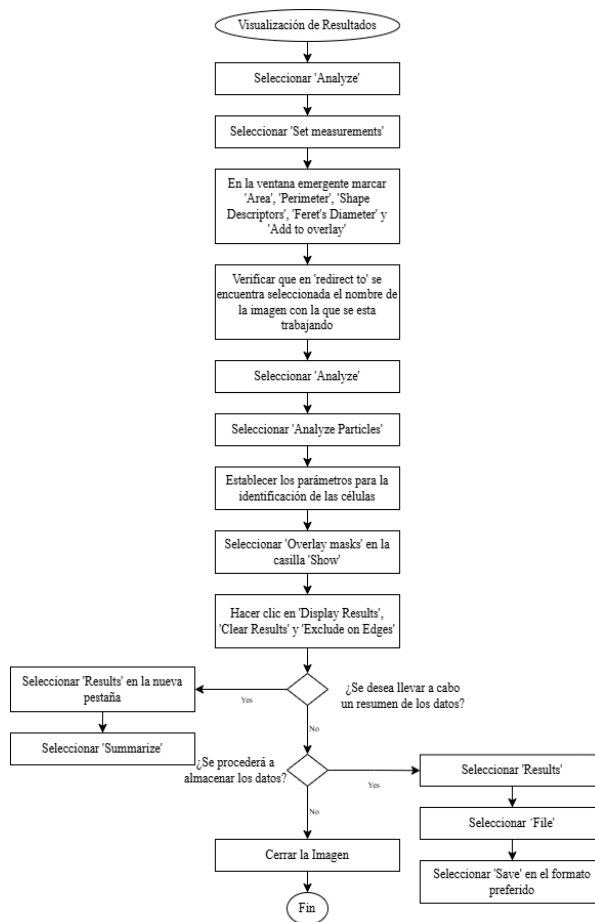


Figura 5 Algoritmo para realizar la visualización de resultados en el software de ImageJ

Análisis de partículas. El siguiente paso consiste en seleccionar Analyze → Analyze Particles. Con esta opción es posible modificar los parámetros de acuerdo con las necesidades del análisis; en este caso se mantuvieron las configuraciones preestablecidas por la aplicación: en Size de 0 a ∞, en Circularity de 0 a 1, y en Show se seleccionó Overlay Masks. Además, se verificó que estuvieran activadas las opciones Display Results (para mostrar los resultados), Clear Results (para evitar repeticiones) y Exclude on Edges (para excluir las células incompletas en los bordes de la imagen).

Tras completar este procedimiento, la imagen se mostró con fondo negro y cada célula apareció marcada con un color y un número (Figura 6). Simultáneamente se generó una tabla con todos los resultados. Los datos que resulten incongruentes pueden ajustarse delimitando los parámetros en *Set Measurements*.

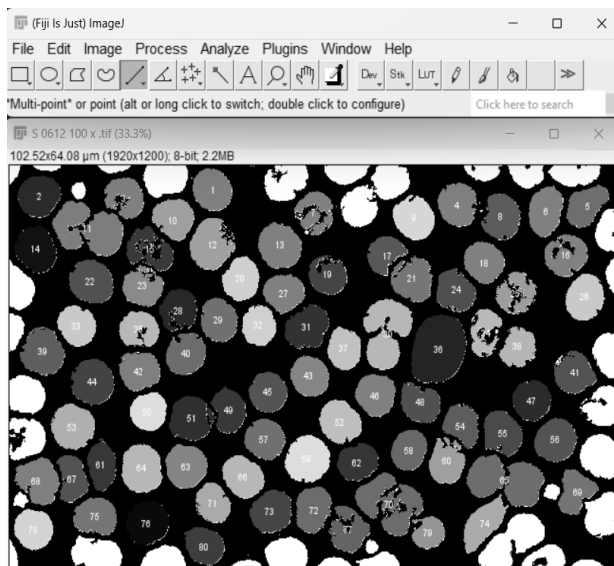


Figura 6 Resultados de las configuraciones empleadas en las imágenes para contabilizar las células presentes

Resumen y almacenamiento de resultados. Para finalizar, se puede obtener un resumen de los datos en la misma tabla mostrada. Se selecciona *Results* → *Summarize*, y en la parte inferior aparecerán los datos de forma resumida. En la Tabla 1 se presentan de manera similar a como los muestra el software. Por último, si se desea guardar estos resultados, se selecciona *Results* → *File* → *Save*, lo que permite almacenarlos en formato Excel o en formato TXT.

Resultados

El algoritmo final desarrollado para su implementación en el software *ImageJ* es el resultado del proceso descrito en las etapas anteriores (Figura 7). Este al-

goritmo facilita el análisis de las imágenes y permite obtener parámetros morfológicos cuantitativos de los eritrocitos observados, como el área, perímetro, redondez y diámetro de Feret. Además, busca optimizar el procesamiento de imágenes de microscopía, garantizando que los resultados sean reproducibles, precisos y fáciles de interpretar.

Este algoritmo busca facilitar el análisis morfológico de los eritrocitos y ofrecer una herramienta adaptable a diferentes tipos de muestras biológicas con morfología similar. De esta manera, se simplifica el uso de *ImageJ* para investigadores que requieran un procedimiento estandarizado y funcional en el análisis celular.

Todos los valores fueron calculados automáticamente por el programa tras la aplicación del algoritmo. Como se observa, las desviaciones estándar de los parámetros de área, perímetro, circunferencia y diámetro de Feret son bajas, lo que evidencia una adecuada consistencia del procedimiento y una correcta delimitación de la imagen (Tabla 1). A partir de este algoritmo se realizó un análisis más específico de las variaciones morfológicas de las muestras bajo distintas condiciones osmóticas, aplicando el método propuesto y siguiendo la metodología descrita en el documento.

El análisis realizado muestra una tendencia ascendente en el área promedio de los eritrocitos a medida que disminuye la concentración de NaCl en el medio (Tabla 2). Paralelamente, se observa una disminución en el diámetro de Feret. Los valores de desviación estándar se mantienen bajos en relación con los promedios, lo que confirma la precisión del algoritmo. Estos cambios señalan que el método es capaz de detectar diferencias morfológicas. En conjunto, los resultados evidencian que el algoritmo diseñado en *ImageJ* permite cuantificar parámetros morfológicos de manera reproducible, facilitando la obtención de datos verificables bajo distintas condiciones de observación.

Tabla 1 Resultados de la muestra de sangre a 100x analizada en *ImageJ*

	Label	Area	Perim.	Circ.	Feret	FeretX	FeretY	FeretAngle	MinFeret	AR	Round	Solidity
77	Mean	0.013	0.509	0.674	0.147	861.882	581.474	100.048	0.121	1.212	0.843	0.942
78	SD	0.003	0.133	0.149	0.025	521.309	312.855	51.697	0.013	0.212	0.108	0.033
79	Min	0.01	0.396	0.168	0.122	20	19	8.315	0.088	1.006	0.443	0.834
80	Max	0.028	1.006	0.869	0.249	1792	1152	178.85	0.166	2.256	0.994	0.977

Tabla 2 Resultados de valores promedio de área y diámetro de eritrocitos a distintas concentraciones de NaCl (100x)

Concentración NaCl (%)	Aumento 100x		
	Parámetro	Area [μ^2]	Feret [μ m]
0.9	mean	15.52315	5.05292
	SD	049921	0.09452
	Min	15.17016	4.98608
	Max	15.87615	5.11975
0.4	mean	25.96679	6.41365
	SD	6.15619	1.33875
	Min	18.07716	4.97799
	Max	40.60766	9.86242
0.32	mean	19.06149	6.06803
	SD	3.70165	0.5807
	Min	12.6247	5.14902
	Max	24.4628	7.09696

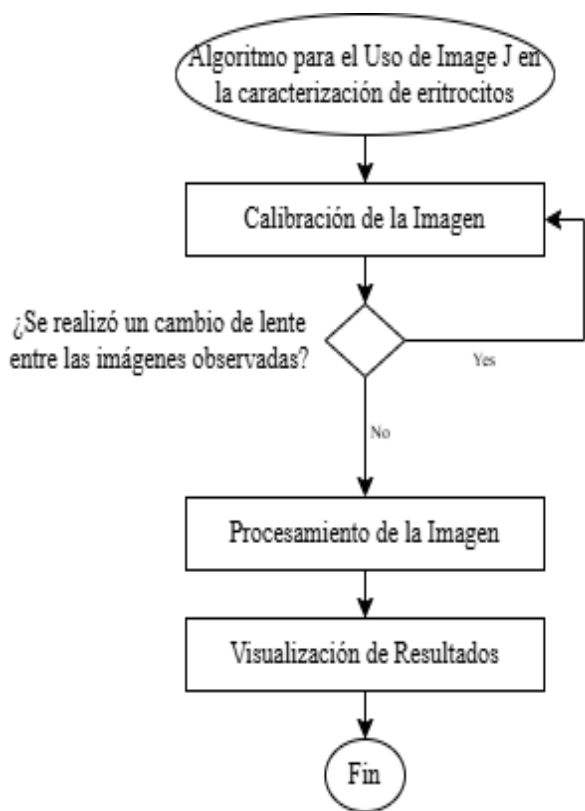


Figura 7 Algoritmo final para realizar la caracterización de los eritrocitos

Discusión

Muchas de las herramientas utilizadas para la observación en *ImageJ* también se encuentran disponibles en otros programas. En el estudio de Mejía & Alzate²⁹, el análisis de los eritrocitos según su forma se realizó en la plataforma *MATLAB*, donde se llevó a cabo el procesamiento de imágenes y la caracterización morfológica en función de su forma y tamaño. Estos autores señalan que es posible emplear *MATLAB* para medir parámetros morfológicos en microscopía. La preferencia por *ImageJ* frente a *MATLAB* radica en su accesibilidad y facilidad de uso³⁰. A diferencia de *MATLAB*, que requiere licencia de pago y conocimientos avanzados de programación al no estar especializado en análisis de imágenes, *ImageJ* es gratuito, de fácil instalación y cuenta con una amplia comunidad de usuarios, además de múltiples herramientas orientadas al análisis de imágenes biológicas.

En concordancia con estas ventajas, diversos autores han destacado la relevancia de las herramientas computacionales abiertas. Li et al.³¹ realizaron una revisión sobre el uso de plataformas libres en el análisis de imágenes biomédicas, subrayando su papel en la estandarización y accesibilidad de los métodos científicos. Además, señalaron que la mayoría de los estudios carecen de parámetros que permitan replicar sus procedimientos. Estos hallazgos respaldan el uso de *ImageJ* como plataforma eficaz y accesible, promoviendo la creación de algoritmos reproducibles para la caracterización morfológica de células sanguíneas, especialmente en entornos académicos y de investigación donde la reproducibilidad y el bajo costo son esenciales.

El algoritmo desarrollado en *ImageJ* podría complementarse en el futuro con estrategias de *deep learning* para crear sistemas de diagnóstico automatizado que combinen la precisión del procesamiento digital con la interpretación inteligente de imágenes biomédicas. Cakmak & Pacal³² evidenciaron que la inteligencia artificial puede emplearse en el diagnóstico de anemia mediante técnicas de *machine learning*, aprovechando la capacidad de estas herramientas para detectar patrones morfológicos y clasificar células sanguíneas de manera automática, contribuyendo así a la detección temprana de enfermedades hematológicas. Además, los avances recientes en inteligencia artificial han destacado el potencial de integrar algoritmos de análisis de imágenes con modelos de aprendizaje profundo. Un ejemplo es la herramienta denominada *RedTell*, diseñada para interpretar la morfología de eritrocitos³³. De igual forma, estudios como los de Foy et al.³⁴ y Ghosh et al.³⁵ han señalado la utilidad de la inteligencia artificial para facilitar el análisis y

la obtención de datos sobre las características morfológicas de los eritrocitos. El algoritmo utilizado en esta investigación es específico para medir parámetros morfológicos de los eritrocitos. No obstante, su estructura puede adaptarse al análisis de células con morfología circular o cuasiesférica. En futuros trabajos sería conveniente evaluar su rendimiento en células con formas distintas o morfología irregular.

Para finalizar, es importante considerar ciertas recomendaciones que previenen errores potenciales capaces de afectar el rendimiento del algoritmo. Entre ellos, la preparación correcta de la muestra, como la delicada realización del frotis²⁶; si este no permite observar zonas donde las células estén dispersas, la imagen no podrá utilizarse, incluso con la herramienta de corrección *Erode*. Lo mismo sucede cuando la tinción no se realiza de manera apropiada²⁷. Otro error frecuente se relaciona con la identificación y delimitación del tamaño celular; en la imagen pueden aparecer estructuras distintas al objeto de estudio, como leucocitos, que por su tamaño destacan tras la tinción (Figura 1). Este problema puede descartarse al seleccionar el parámetro *Area*, delimitando el conteo de componentes. También, la toma de la imagen para la calibración debe ser precisa, ya que resulta determinante en todo el proceso³⁶. Además, la calibración correcta de la microscopía con la retícula micrométrica es esencial para asegurar la fiabilidad de las mediciones. Cada lente objetivo debe calibrarse de manera independiente, dado que las variaciones en el aumento modifican la escala de conversión de píxeles a micrómetros. En conjunto, los resultados y consideraciones presentadas refuerzan la validez del algoritmo como herramienta confiable para el análisis de imágenes orientado al estu-

dio morfológico de eritrocitos. La principal contribución de este trabajo radica en la estandarización de un algoritmo reproducible y accesible para cualquier científico que se inicie en el análisis de imágenes mediante un software libre como *ImageJ*, permitiendo la obtención de datos precisos sin recurrir a programas de alto costo. La implementación de este algoritmo en *ImageJ* facilita el estudio de imágenes hematológicas y puede adaptarse al análisis de células con morfología similar, constituyendo una base sólida para futuras investigaciones. De este modo, el algoritmo propuesto contribuye a la estandarización del análisis morfológico de eritrocitos en la investigación.

Fuente de financiamiento

El financiamiento vino de parte de las organizaciones ESA (European Space Agency) y UNOOSA (United Nations of Outer Space Affairs) que fue otorgado a las autoras por haber ganado la 2da ronda HYPERGES.

Conflictos de intereses

Este artículo fue realizado con las muestras pertenecientes al equipo de trabajo del proyecto por lo que no presenta conflictos de interés.

Agradecimientos

Las autoras muestran su agradecimiento a la Oficina de Naciones Unidas para Asuntos del Espacio Exterior (UNOOSA) y a la Agencia Espacial Europea (ESA) por su iniciativa Acceso al Espacio para Todos: oportunidad HyperGES y por su apoyo para la utilización de la Centrifuga de Largo Diámetro de la ESA. También se agradece a OBERON S.R.L. por su

colaboración con material de laboratorio a nuestro proyecto.

Consideraciones éticas

Para la toma de muestra de sangre se tuvo la aprobación del comité de bioética de la Universidad Católica Boliviana “San Pablo” y las muestras fueron tomadas con el consentimiento firmado del donante.

Limitaciones en la investigación

En la investigación no se realizó triplicado de las muestras y se realizó la extracción de muestras de un mismo individuo.

Permisos para la publicación

La investigación no requiere ningún permiso, el contenido de esta es original y no ha sido publicado previamente.

Aporte de los autores en el artículo

La escritora del artículo es *Natalia Agramont Morales*. La revisora del artículo y docente guía es la *PhD. Georgina Chávez Lizárraga*. Las encargadas de realizar los diagramas presentados en el artículo fueron *Belén Araceli Flores Botello* y *Marcia Olga Carrasco Rosso*. *Daira Quenta* fue la encargada de la preparación de las muestras. Todas las autoras realizaron el análisis de los datos para el laboratorio.

Uso de inteligencia artificial

No se utilizó herramientas de inteligencia artificial en la escritura de este manuscrito. Todo fue escrito por las autoras.

Divulgación de generación de imágenes

Todas las figuras, tablas y diagramas fueron realizados por los autores, no se utilice ninguna herramienta de inteligencia artificial en la realización de las mismas.

Literatura citada

1. Sánchez Lera RM, Oliva García NR. Historia del microscopio y su repercusión en la Microbiología. *Rev Hum Med* 2015;15(2):355-72.
2. Campos A. The cell. Three hundred fifty years of history (1665-2015). *Actual Med* 2015;100(796): 155-8. DOI: <https://doi.org/10.15568/am.2015.796.ca01>
3. Izaguirre-Ávila R, de Micheli A. Evolución del conocimiento sobre la sangre y su movimiento: Parte II. El saber sobre su composición. *Iatroquímica de la sangre. Rev Invest Clín* 2005;57(1):85-97.
4. Anemia megaloblástica en los niños [Internet]. Stanford Medicine - Children's Health. 2025 [citado 3 de enero de 2025]. Recuperado a partir de: <https://www.stanfordchildrens.org/es/topic/default?id=megaloblastic-anemia-in-children-90-P05434>
5. Megías M, Molist P, Pombal MA. Atlas de histología vegetal y animal [Internet]. España: Universidad de Vigo; 2023 [citado 3 de enero 2025]. Recuperado a partir de: <http://mmegias.webs.uvigo.es/inicio.html>
6. Mejía Fajardo M, Alzate Monroy M. Clasificación automática de formas patológicas de eritrocitos humanos. *Ing* 2016;21(1):31-48. DOI: <https://doi.org/10.14483/udistrital.jour.reving.2016.1.a03>
7. Cela E. Anemia falciforme. *Acta Pediatr Esp* 2008;66(7):327-9.
8. Navya KT, Prasad K, Singh BMK. Analysis of red blood cells from peripheral blood smear images for anemia detection: a methodological review. *Med Biol Eng Comput* 2022;60(9):2445-62. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11517-022-02614-z>. PMID: 35838854; PMCID: PMC9365735.
9. Torrens M. Interpretación clínica del hemograma. *Rev Méd Clín las Condes* 2015;26(6):713-25. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rmclc.2015.11.001>
10. Maedel LB. Examen de extendidos de sangre periférica. En: Rodak BF, editor. *Hematología Fundamentos y Aplicaciones Clínicas*. 2ª ed. Philadelphia: Elsevier Science; 2002. p.173-186.
11. Retamales Castelletto E, Manzo Garay V. Recomendaciones para la tinción de frotis sanguíneos para la lectura del hemograma [Internet]. Santiago: Instituto de Salud Pública de Chile; 2018 [citado 25 de enero de 2025]. 14 p. Recuperado a partir de: <https://www.ispch.cl/sites/default/files/RECOMENDACIONES%20PARA%20LA%20TINCI%20DEL%20FROTIS%20SANGU%20NEO.pdf>
12. Rodríguez de la Concha Azcárate G, López Téllez G, Vilchis Nestor AR. El microscopio bajo mis manos: breve historia, funcionamiento y aplicaciones de la microscopía. *Ciencia Ergo-Sum* 2023; 30(3):e213. DOI: <https://doi.org/10.30878/ces.v30n3a9>
13. Adobe Explains it All [Internet]. Adobe blog - Adobe Corporate Communications. 2015 [cited January 9, 2025]. Recuperado de: <https://blog.adobe.com/en/publish/2015/02/25/adobe-explains-it-all-photoshop>
14. Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods* 2012;9(7):671-5. DOI: <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>. PMID: 22930834; PMCID: PMC5554542.
15. Wiesmann V, Franz D, Held C, Münzenmayer C, Palmisano R, Wittenberg T. Review of free software tools for image analysis of fluorescence cell micrographs. *J Microsc* 2015;257(1):39-53. DOI:

- <https://doi.org/10.1111/jmi.12184>. PMID: 25359577.
16. de Chaumont F, Dallongeville S, Olivo-Marin JC. ICY: A new open-source community image processing software. In: American Institute of Electrical Engineers, editors. International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro, 2011 [Internet]. Chicago. p. 234-7. DOI: <https://doi.org/10.1109/ISBI.2011.5872395>
 17. Stritt M, Stalder AK, Vezzali E. Orbit Image Analysis: An open-source whole slide image analysis tool. *PLoS Comput Biol* 2020;16(2):e1007313. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1007313>. PMID: 32023239; PMCID: PMC7028292.
 18. Merino A, Puigví L, Boldú L, Alférez S, Rodellar J. Optimizing morphology through blood cell image analysis. *Int J Lab Hematol* 2018;40 Suppl 1:54-61. DOI: <https://doi.org/10.1111/ijlh.12832>. PMID: 29741256.
 19. Malik H, Idris AS, Toha SF, Mohd Idris I, Daud MF, Azmi NL. A review of open-source image analysis tools for mammalian cell culture: algorithms, features and implementations. *PeerJ Comput Sci* 2023;9:e1364. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj-cs.1364>. PMID: 37346656; PMCID: PMC10280419.
 20. Rueden CT, Schindelin J, Hiner MC, DeZonia BE, Walter AE, Arena ET, et al. ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data. *BMC Bioinformatics* 2017;18(1):529. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12859-017-1934-z>. PMID: 29187165; PMCID: PMC5708080.
 21. Schindelin J, Rueden CT, Hiner MC, Eliceiri KW. The ImageJ ecosystem: An open platform for biomedical image analysis. *Mol Reprod Dev* 2015;82(7-8):518-829. DOI: <https://doi.org/10.1002/mrd.22489>. PMID: 26153368; PMCID: PMC5428984.
 22. Mejía FM, Alzate M, Rodríguez VJ. Clasificación automática de glóbulos rojos en frotis de sangre periférica. *Rev Univ Ind Santander Salud* 2016;48(3):311-9. DOI: <http://dx.doi.org/10.18273/revsal.v48n3-2016005>
 23. Chadha GK, Srivastava A, Singh A, Gupta R, Singla D. An automated method for counting red blood cells using image processing. *Procedia Comput Sci* 2020;167:769-78. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procs.2020.03.408>
 24. Instituto Boliviano de Biología de Altura. Valores de laboratorio establecidos en la altura (3600 msnm). Adultos de 20 a 60 años [Internet]. La Paz: Instituto Boliviano de Biología de Altura; 2016-2019 [citado 14 de julio de 2025]. 11 p. Recuperado a partir de: <https://www.umsa.bo/documents/4919915/5008945/COMPLETO.pdf/8983806d-8bdf-ab05-4eb8-a80a2e0f73f0>
 25. Alonso-Geli Y, Alonso-Moreno Y, Falcón-Diéguez JE, Lucambio-Miró L, Castro-Piñol M. Caracterización de la fragilidad osmótica de eritrocitos humanos en la anemia drepanocítica. *Rev Cub Quim* 2015;27(2):110-8.
 26. Vu QH, Van HT, Tran VT, Huynh TDP, Nguyen VC, Le DT. Development of a robust blood smear preparation procedure for external quality assessment. *Pract Lab Med* 2021;27:e00253. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plabm.2021.e00253>. PMID: 34458537; PMCID: PMC8379645.
 27. Li Y, Peng X, Zhou X, Ren B, Xiao L, Li Y, et al. Basic biology of oral microbes. In: Zhou X, Li Y, editors. Atlas of oral microbiology: From healthy microflora to disease. Singapore: Springer; 2020. p. 1-24. DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-15-7899-1_1
 28. Formats [Internet]. ImageJ Docs; 2022 [cited August 7, 2025]. Retrieved from: <https://imagej.net/formats/>
 29. Mejía M, Alzate M. Clasificación automática de formas patológicas de eritrocitos humanos. *Ing* 2016;21(1):31-48. DOI: <https://doi.org/10.14483/udistrital.jour.reving.2016.1.a03>

30. Osuna Romera I. Uso de pantallas digitales como dianas de localización y posicionamiento [tesis licenciatura]. [Alacant]: Universitat d'Alacant; 2019 [citado 26 de mayo de 2025]. Recuperado a partir de: https://rua.ua.es/bitstream/10045/94730/1/Uso_de_pantallas_digitales_como_dianas_de_localizacion_y_Osuna_Romera_Irina.pdf
31. Li R, Sharma V, Thangamani S, Yakimovich A. Open-Source Biomedical Image analysis models: A Meta-Analysis and continuous survey. *Front Bioinform* 2022;2:912809. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbinf.2022.912809>. PMID: 36304285; PMC ID: PMC9580903.
32. Cakmak Y, Pacal I. AI-Driven Classification of Anemia and Blood Disorders Using Machine Learning Models. *Computers and Electronics in Medicine* 2025;2(2):43-52. DOI: <https://doi.org/10.69882/adba.cem.2025073>
33. Sadafi A, Bordukova M, Makhro A, Navab N, Bogdanova A, Marr C. RedTell: an AI tool for interpretable analysis of red blood cell morphology. *Front Physiol* 2023;14:1058720. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1058720>. PMID: 37304818; PMCID: PMC10250619.
34. Foy BH, Stefely JA, Bendapudi PK, Hasserjian RP, Al-Samkari H, Louissaint A, et al. Computer vision quantitation of erythrocyte shape abnormalities provides diagnostic, prognostic, and mechanistic insight. *Blood Adv* 2023;7(16):4621-30. DOI: <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2022008967>. PMID: 37146262; PMCID: PMC10448422.
35. Ghosh S, Roy A, Sarkar D. Assessment of morphologically altered RBCs using image processing tools. *Mat Today Proc* 2016;3(10 Pt A):3361-6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2016.10.017>
36. Tapia Rodríguez M. *ImageJ para microscopía* [Internet]. México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2013 [citado 22 de enero de 2025]. 24 p. Recuperado a partir de: <https://www.biomedicas.unam.mx/wp-content/pdf/unidad-de-microscopia/guia-de-imagej-para-microscopia.pdf?x66109>

Nota del Editor:
Journal of the Selva Andina Research Society (JSARS) se mantiene neutral con respecto a los reclamos jurisdiccionales publicados en mapas y afiliaciones institucionales, y todas las afirmaciones expresadas en este artículo pertenecen únicamente a los autores, y no representan necesariamente las de sus organizaciones afiliadas, o las del editor, editores y revisores. Cualquier producto que pueda ser evaluado en este artículo o reclamo que pueda hacer su fabricante no está garantizado ni respaldado por el editor.