

RECUESTO DE PLAQUETAS CON HEMOCITÓMETRO

Fundamento

Para el recuento en cámara de plaquetas, se diluye la sangre problema en un líquido apropiado y, posteriormente, se deposita en la cámara de recuento, donde se cuentan las células presentes en alguno de los cuadrados de uno de los retículos.

Material necesario

- Un tubo de ensayo, preferentemente, de plástico
- Una pipeta diluidora de Thoma, para recuento de glóbulos rojos
- Un tubo de goma con boquilla, adaptable a la pipeta diluidora
- Gasas
- Una cámara de recuento, con un retículo tipo Neubauer mejorado
- Un cubreobjetos, preferentemente, del tipo especialmente diseñado para su uso en recuentos con cámara
- Un microscopio, preferentemente, de contraste de fases
- Una placa de Petri
- Papel de filtro

Reactivos

- Agua destilada o desionizada
- Líquido de dilución. Hay varias soluciones que pueden emplearse para el recuento de trombocitos. Sin embargo en esta práctica se recomienda el uso del líquido de dilución suministrado por los Laboratorios Spinreact. Este líquido rompe los hematíes, evita la agregación de las plaquetas entre sí y su adhesión a otros elementos y facilita la visualización de las plaquetas al hacerlas refringentes.

Muestra

- Sangre capilar o sangre venosa extraída recientemente y recogida en un tubo con EDTA-K₃

Técnica

1. Verter, en un tubo de ensayo, el volumen necesario de líquido de dilución para efectuar los ensayos requeridos (aproximadamente 1 ml para cada determinación). El volumen de líquido sobrante no ha de ser reintegrado al frasco donde estaba envasado, para no contaminar al resto de líquido de dilución.
2. Con una pipeta diluidora de tipo Thoma, aspirar la muestra de sangre, adecuadamente homogeneizada, hasta la señal de 1

3. Limpiar, con una gasa, la sangre adherida al exterior de la pipeta
4. Aspirar el líquido de dilución hasta la señal de 101 de la pipeta
5. Agitar la pipeta, con movimientos de suave inversión, durante unos 5 minutos
6. Desechar las 5 primeras gotas de dilución que salen de la pipeta
7. Cargar, correctamente, una cámara de recuento, con la dilución de sangre que queda en la pipeta
8. Colocar la cámara de recuento cargada, en el interior de una cámara húmeda. Se puede preparar una cámara húmeda con una placa de Petri cerrada, en cuyo interior se deposita un papel de filtro embebido en agua.
9. Dejar reposar la cámara de recuento cargada, durante 15 minutos. La cámara húmeda evita el resecamiento de la dilución de sangre presente en la cámara de recuento y el reposo asegura la sedimentación completa de todas las plaquetas.
10. Colocar la cámara de recuento sobre la platina del microscopio.
11. Enfocar uno de los retículos de la cámara de recuento, con un objetivo de vado aumento (10X). Con este objetivo se observa la homogeneidad de la distribución celular, de forma que, si ésta es satisfactoria, se efectúa una nueva dilución de la muestra.
12. Enfocar uno de los cuadrados grandes del retículo (por ejemplo el central), con el objetivo de mediano aumento (con el de 40x). Si se utiliza un microscopio normal, las plaquetas se visualizan mejor situando el condensador ligeramente bajo.
13. Contar la totalidad de las plaquetas depositadas en ese cuadrado grande.

Lectura de resultados:

Los trombocitos se observan como corpúsculos redondeados u ovalados, de tamaños muy pequeños y muy refringentes. Hay que procurar no confundirlos con leucocitos, restos eritrocitarios y, sobre todo, con partículas de polvo.

Para calcular el número de plaquetas por mm^3 de sangre, se aplica la siguiente fórmula:

$$\text{PLT}/\text{mm}^3 = P \times V \times D = P \times 1000$$

PLT/mm^3 = número de plaquetas por mm^3 de sangre

P = Número de plaquetas contadas en 1 cuadrado grande

V = Corrección de volumen (10)

D = Corrección de dilución (100)

Si la cifra de plaquetas obtenida es, sospechosamente, muy reducida, se efectúa una dilución menor de la muestra y se cuentan los trombocitos depositados en varios cuadrados grandes.

Por el contrario, si la cifra de plaquetas obtenida es, sospechosamente, muy elevada, se efectúa una dilución mayor de la muestra.

Esto implica un ajuste de los cálculos necesarios para obtener el PLT/mm³ y tiene por objeto el confirmar los resultados obtenidos.