

Quantitative determination

Direct Method

Store at room temperature.

For "in vitro" diagnostic use only.

PRINCIPLE

This method has been developed for the counting of platelets using normal laboratory equipment and whole blood samples.

The technique involves a quick lysis of red cells by the improved diluting in which an effective antiaggregating agent has been added to avoid the shortcomings of conventional methods.

REAGENT PREPARATION AND STABILITY

The reagent is ready to use.

Stable when protected from light and stored at room temperature until the expiration date on the label.

Do not use reagents over the expiration date.

SAMPLES

Venous blood collected into K₃ – EDTA

MATERIALS

- Thoma counting chamber or similar.
- Microscopy

PROCEDURE

Ref: 1700091 50 x 1.98 mL

1. Expel into the plastic disposable tube 20 µL (0.02 mL) of blood cells. Mix well by repeated inversion manually or mechanically for 4-5 minutes. Do not shake.
2. Fill the chamber of Thoma by placing the tip of pipette are one of the open ends of the chamber. If air bubbles are present, clean again and refill the chamber.
3. Allow to stand for 15 minutes in order to ensure sedimentation of the platelets in closed Petri dish kept humid.
4. **Counting.** Count total number of platelets of the whole chamber (1 mm²).
Platelets will appear as small refractile bodies under the X40 objective and the X10 eyepiece.

Ref: 1700090 50 mL

1. Pour into a disposable test tube enough volume to perform the test needed (1mL / Test). Never introduce the red cell pipette directly into a Platelet Counting Fluid bottle.
2. Fill a red cell pipette rapidly with whole blood taken in the way described, to the 1 mark.

3. Diluting fluid is quickly drawn to the 101 mark (dilution 1:100).
4. Shake the pipette either manually or mechanically for 4-5 minutes. Do not shake.
5. Discard the first 3 or 4 drops and then fill the chamber of Thoma by placing the tip of pipette are one of the open ends of the chamber. If air bubbles are present, clean again and refill the chamber.
6. Allow to stand for 15 minutes in order to ensure sedimentation of the platelets in closed Petri dish kept humid.
7. **Counting.** Count total number of platelets of the whole chamber (1 mm²).
Platelets will appear as small refractile bodies under the X40 objective and the X10 eyepiece.

CALCULATIONS

Number of cells counted x 1000 = platelets/mm³ blood.

NORMAL VALUES

150.000 to 400.000 platelet / mm³

150 to 400 x 10⁹ / L

NOTES

The direct counting method should always be supplemented by a blood smear, first, to confirm the counted number and, second, to study platelet morphology.

All thrombocytopenic results must be confirmed before being reported.

Counting chambers equivalence (1mm²)

- Thoma : 1 big square = 16 medium square.
- Neubauer : 1 big square = 16 medium square.
- Neubauer new : 1 big square = 25 medium square.

PACKAGING

Ref: 1700090	50 mL
Ref : 1700091	50 x 1.98 mL



Determinación cuantitativa

Método directo

Conservar a T^º ambiente
IVD

FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Las plaquetas son los elementos más pequeños de la sangre. Actúan en la Hemostasis y en el mantenimiento de los vasos sanguíneos.

Dado su pequeño tamaño son muy difíciles de contar. El líquido de SPINREACT facilita una visualización y conteo microscópico óptimo de las plaquetas al dotarlas de una refringencia, evitando, al mismo tiempo, su adherencia a otros elementos, así como su agregación.

PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD

El reactivo está preparado para su uso.

El reactivo es estable hasta la fecha de caducidad indicada en el envase, conservado a temperatura ambiente y resguardado de la luz.

MUESTRA

Se puede utilizar sangre capilar o sangre venosa recién extraída en un tubo con EDTA-K.

MATERIAL REQUERIDO PARA EL ENSAYO

-Cámara de Thoma o similar.
-Microscopio.

TECNICA

Ref: 1700091 50 x 1.98 mL

1. Añadir al tubo de reactivo 20 µl (0.02 ml) de sangre total. Agitar bien.
2. Llenar la cámara de Thoma. Evitar la formación de burbujas.
3. Dejar la cámara 15 minutos en reposo para asegurar la sedimentación completa de las plaquetas.
4. Empleando una óptica de mediano aumento y condensador ligeramente bajo, contar la totalidad de las plaquetas contenidas en el cuadro grande (1 mm²). Éstas aparecen como corpúsculos refringentes perfectamente diferenciados de los leucocitos y restos de estroma eritrocitario.

Ref: 1700090 frasco 50 mL

1. A fin de no contaminar el frasco del líquido de conteo, separar en un tubo la cantidad aproximada de líquido que va a necesitar (1ml por determinación). Desechar el resto.

2. Con una pipeta de recuento de hematíes, aspirar la muestra de sangre homogeneizada hasta la señal 100.
3. Aspirar el líquido de conteo hasta la señal 101.
4. Agitar la pipeta durante 5 minutos.
5. Desechar las 4 o 5 primeras gotas y llenar la cámara de Thoma aplicando la punta de la pipeta al borde del cubreobjetos.
6. Dejar reposar durante 15 minutos en un lugar húmedo a fin de evitar la evaporación. (Placa de Petri húmeda)
7. Lectura, mediante un microscopio con contraste de fase, contar la totalidad de las plaquetas depositadas en un cuadro grande (1 mm²). Las plaquetas se diferencian de los leucocitos y restos de estroma eritrocitario porque aparecen refringentes.

CÁLCULOS

Nº de plaquetas contadas x 1000 = plaquetas/mm³ de sangre.

VALORES NORMALES

150.000 - 400.000 plaquetas/mm³.

150 - 400 x 10⁹ / L

NOTAS

El conteo puede efectuarse en cualquier cámara del mercado, pero debe asegurarse de hacer la lectura en 1 mm².

Los métodos de conteo directos deberían ser confirmados por un frotis sanguíneo, al mismo tiempo que examinamos la morfología de las plaquetas.

Ante un resultado trombocitopénico, efectuar siempre un análisis confirmatorio antes de entregar el dictamen.

En las cámaras más usuales 1 mm² equivale a:

Thoma	: 1 cuadro grande = 16 medianos.
Neubauer antigua	: 1 cuadro grande = 16 medianos.
Neubauer mejorada	: 1 cuadro grande = 25 medianos.

PRESENTACIÓN

Ref: 1700090 50 mL

Ref : 1700091 50 x 1.98 mL

