Laboquimia

Manual de procedimiento · Hematología

Recuento total de leucocitos en sangre

Dilución en Türk, carga en cámara de Neubauer mejorada y cálculo de leucocitos por microlitro.

Antes de empezar

Visión general del proceso

El recuento se apoya en cuatro decisiones fijas — el tubo de extracción, la dilución en Türk, la cámara de recuento y el factor de cálculo — que conviene tener presentes de un vistazo antes de entrar en el detalle de cada paso.

Figura 1. Cinco etapas del procedimiento, desde la extracción hasta el cálculo final.

Materiales de referencia

Tubo de extracción
BD Vacutainer® K3-EDTA 2 mL · ref. 2011367836

Microtubo de dilución
Kartell 1,5 mL · ref. 200345029800

Cámara de recuento
Marienfeld-Superior® Neubauer mejorada · ref. 23770640010

Diluyente
Solución de Türk (Merck)

> *Idea clave*
> El EDTA del tubo de extracción impide la coagulación, de modo que la misma muestra sirve tanto para el recuento hematológico como para el resto de determinaciones que se deriven de ella.

LABOQUIMIA · Tel. (+34) 941 449 863 · www.laboquimia.es · consultas@laboquimia.es

Paso 1

1 Muestra

La sangre se obtiene en un tubo **BD Vacutainer® K3-EDTA 2 mL** (ref. 2011367836). El EDTA evita la coagulación de la muestra y permite utilizar la sangre posteriormente para el recuento hematológico.

Paso 2

2 Dilución

En el microtubo **Kartell 1,5 mL** (ref. 200345029800) se añaden, en este orden:

Figura 2. 20 µL de sangre EDTA en 180 µL de Türk → 200 µL totales → dilución 1:10 (20/200).

Orden de adición

1. **Pipetear el diluyente**
   180 µL de Türk en el microtubo Kartell.
2. **Añadir la sangre**
   20 µL de sangre EDTA sobre el Türk.

La cuenta

20 µL de sangre sobre 200 µL de volumen final:

20 / 200 = **1:10**

Esta proporción es la que fija más adelante el factor de cálculo ×25.

LABOQUIMIA · Tel. (+34) 941 449 863 · www.laboquimia.es · consultas@laboquimia.es

Paso 3

3 Homogeneización

Cerrar el microtubo y mezclar suavemente hasta conseguir una suspensión homogénea, ya sea de forma manual o con un agitador Vortex.

> *Referencia del fabricante*
>
> Merck indica que la mezcla sangre/Türk debe mezclarse cuidadosamente y puede dejarse actuar hasta una hora; para un procedimiento rutinario conviene seguir el tiempo establecido por el método validado del laboratorio.

Paso 4

4 Cámara

Se utiliza una cámara **Marienfeld-Superior® Neubauer mejorada** (ref. 23770640010) para cargar la dilución y realizar el recuento microscópico.

Cargar la cámara

1. **Colocar el cubreobjetos especial**
   De 20 × 26 mm y 0,4 mm de grosor, sobre las dos plataformas elevadas de la cámara, sin sobrellenarla.

2. **Dejar sedimentar**
   Esperar unos minutos para que las células se distribuyan antes del recuento, como es habitual en los protocolos de recuento manual.

> *No usar un cubreobjetos más fino*
>
> Marienfeld especifica que el cubreobjetos de **0,4 mm** limita el volumen sobre la retícula; los más finos pueden doblarse por las fuerzas capilares y falsear el volumen contado.

LABOQUIMIA · Tel. (+34) 941 449 863 · www.laboquimia.es · consultas@laboquimia.es

Paso 5

5 Recuento

Con objetivo **10×**, se localizan los cuatro cuadrados grandes de las esquinas de la retícula. Marienfeld confirma expresamente que, en la Neubauer mejorada, los leucocitos se cuentan en esos **4 cuadrados grandes de las esquinas**.

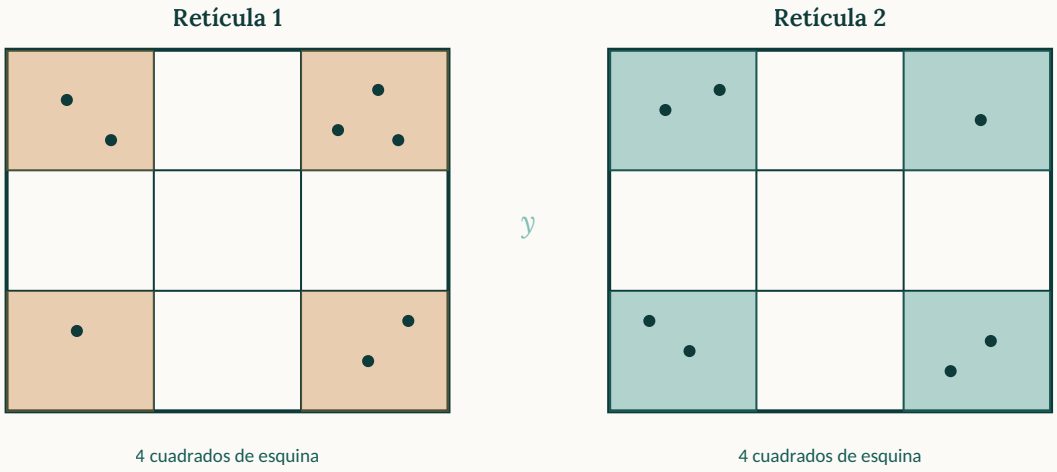

Figura 3. La cámara Marienfeld tiene dos retículas: se cuenta en ambas y se comparan los resultados.

Hay que aplicar una **regla de bordes consistente** para no contar una célula dos veces — por ejemplo, contar las células que tocan dos lados determinados del cuadrado y excluir las que tocan los otros dos.

> *Por qué se cuenta dos veces*
> Al tratarse de una aplicación IVDR, el recuento se realiza en ambas cámaras/retículas y se comprueba que los resultados sean razonablemente concordantes. Marienfeld señala que sus cámaras para suspensiones celulares llevan dos retículas precisamente porque las aplicaciones IVDR generalmente requieren determinaciones por duplicado.

Retícula	Acción	Resultado
Retícula 1	Recuento en los 4 cuadrados de esquina	N_1 leucocitos
Retícula 2	Recuento en los 4 cuadrados de esquina	N_2 leucocitos
Comparación	Concordancia según el criterio de aceptación del laboratorio	$N_1 \approx N_2$

LABOQUIMIA · Tel. (+34) 941 449 863 · www.laboquimia.es · consultas@laboquimia.es

Para nuestro kit

Procedimiento resumido

Versión operativa de los pasos anteriores, pensada para dejarse tal cual en las instrucciones de uso del kit.

A · Muestra

BD Vacutainer® K3-EDTA 2 mL
ref. 2011367836

Obtenemos la sangre y la mantenemos anticoagulada.

B · Preparar la dilución

En el microtubo Kartell 1,5 mL:

1. **Pipetear**
   180 µL de Türk.
2. **Añadir**
   20 µL de sangre EDTA.
3. **Cerrar**
   El microtubo.
4. **Homogeneizar**
   Cuidadosamente, de forma manual o con Vortex.

El laboratorio o usuario debe verificar y validar el procedimiento según su propio sistema de calidad y el uso previsto.

LABOQUIMIA · Tel. (+34) 941 449 863 · www.laboquimia.es · consultas@laboquimia.es

Síntesis

Conclusión

Figura 4. Cadena completa del procedimiento.

N × 25 = leucocitos / µL

Factor geométrico correspondiente a la dilución 1:10

No utilizar ×50

Para nuestra dilución 1:10, el factor geométrico es **×25**. La técnica clásica ×50 corresponde a la **dilución 1:20**, no a la que se emplea en este procedimiento.

Dilución	Factor geométrico	¿Se usa en este kit?
1:10	×25	Sí
1:20	×50	No

Nota: el laboratorio o usuario debe verifcar y validar el procedimiento según su sistema de calidad y el uso previsto.

LABOQUIMIA · Tel. (+34) 941 449 863 · www.laboquimia.es · consultas@laboquimia.es