

1. Objeto

Medir la cantidad de plaquetas circulantes en sangre total con K3EDTA , así como el cálculo del volumen plaquetario medio, utilizando los instrumentos de medición Coulter DxH600

2. Alcance

Aplica para todos los bacteriólogos, los cuales tienen la competencia de realizar esta prueba en la sede Centro y la sede tesoro y está avalada por la dirección del laboratorio de acuerdo a los entrenamientos proporcionados y a la evaluación de competencias.

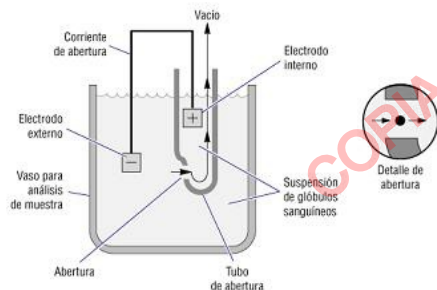
3. Propósito del análisis

Las plaquetas son células anucleadas, discoides, de aproximadamente 2-3 μm de diámetro que funcionan principalmente como reguladores de la hemostasia, pero también desempeñan funciones secundarias en la angiogenesis y la inmunidad innata.

Los adultos humanos contienen casi un billón de plaquetas en circulación, cada una con una Vida útil promedio de sólo 8 a 10 días. Entre sus funciones primarias está la activación y para responder a lesiones de los vasos sanguíneos por cambiar de forma, segregar el contenido de los gránulos y agregarse para formar un coágulo de plaquetas. Las plaquetas también desempeñan funciones secundarias para ayudar a regular la angiogénesis y las enfermedades inmunes innatas. Para mantener un recuento de plaquetas de 150 a 400 $10^9/\text{L}$, aproximadamente 100 mil millones de plaquetas nuevas deben producirse diariamente a partir de la médula ósea. Los megacariocitos son células mieloides que constituyen menos del 0,1% de la población celular de la médula ósea, y su número puede ser modulado por factores como la trombopoyetina (TPO), las quimiocinas, entre otros (1).

4. Principio del procedimiento

El principio Coulter, en honor al ingeniero Wallece Henry Coulter quien lo describió en 1956, se basa en la resistencia que presentan las células, que no son conductoras eléctricas, al paso de la corriente eléctrica cuando atraviesan un pequeño orificio, conocido como «orificio de apertura» que separa dos medios con diferente potencial, como se muestra en la figura 1. Cada vez que una célula atraviesa el orificio de apertura se presenta un cambio en la resistencia eléctrica que el instrumento interpreta como un impulso que es proporcional al volumen del líquido electrolítico desplazado. Bajo estas circunstancias, los impulsos representan el tamaño o volumen de las células y el número de células que atraviesan el orificio de apertura es proporcional a su concentración en el medio electrolítico (2).



Recuento de Plaquetas y distribución de tamaño

Durante la detección de ERIT, los pulsos que representan células de entre 2 y 20 fL son clasificados como plaquetas. El sistema prolonga automáticamente el tiempo de detección si la captación de plaquetas está por debajo de un nivel predeterminado. El sistema clasifica los pulsos Plq por tamaños, y los agrupa en 64 canales para elaborar el histograma de Plq.

Recuento de plaquetas (Plq)

Éste es el número de trombocitos derivado del histograma de Plq y multiplicado por una constante de calibración. Este número se expresa como:
Plaquetas: $n \times 10^3 / \mu\text{L}$

Volumen plaquetario medio (VPM)

El VPM es el volumen medio de las plaquetas individuales derivado a partir del histograma de Plaquetas. Representa el volumen medio de la población de Plquetas multilicado por un factor de calibración, es expresado en femtolitros.

5. Especificaciones de desempeño

Recuento de plaquetas

Intervalo de medición Sede Centro: $32,0 \times 10^3$ Plaquetas/ μL a 1617×10^3 Plaquetas/ μL

Intervalo de medición Sede Tesoro: $4,0 \times 10^3$ plaquetas/ μL a 1629×10^3 plaquetas/ μL

Intervalo dinámico comunicable $3,0 \times 10^3$ plaquetas/ μL a 3000×10^3 plaquetas/ μL

VPM:

Intervalo de medición Sede Centro: 13,0 fL a 25,7 fL

Intervalo de medición Sede Tesoro: 5,7 fL a 11,3 fL

Intervalo dinámico comunicable 0,0 fL a 99,9 fL

Rangos de funcionamiento y rangos reportables:

Los intervalos dinámico comunicable o intervalo de funcionamiento reflejan el rango de valores sobre los cuales el instrumento muestra, imprime y transmite los resultados. Valores que están entre el rango lineal y el rango de operación. El intervalo de medición identifica los valores donde el instrumento es exacto y refleja la gama estudiada en las pruebas de precisión.

Precisión:

Se realizó bajo condiciones de repetibilidad (r) y precisión intermedia (R) utilizando el mismo lote de reactivo, la misma calibración y tres niveles de controles. Se utilizó como meta analítica el error total por variabilidad biológica.

Para repetibilidad: error total x 0,25 = CV%

Para precisión intermedia: error total x 0,33 = CV%

Nota: Ver resultado del ejercicio de verificación de cada equipo.

Fondo

Cuenta para parámetros CBC son realizadas durante el ciclo de inicio. Los límites de fondo son:

Plaquetas: < 3.00 x10³ células/μl

Arrastre

El arrastre en el analizador DxH600 debería cumplir con estos límites:

Plaquetas: < 1.0 %

6. Muestra recomendada

La muestra recomendada es sangre total con K3EDTA. El uso de otros anticoagulantes puede producir resultados incorrectos. La toma de muestra no requiere ayuno, debe ser obtenida por punción venosa. La aguja utilizada debe ser calibre 19-21 para obtener sangre de una vena cubital.

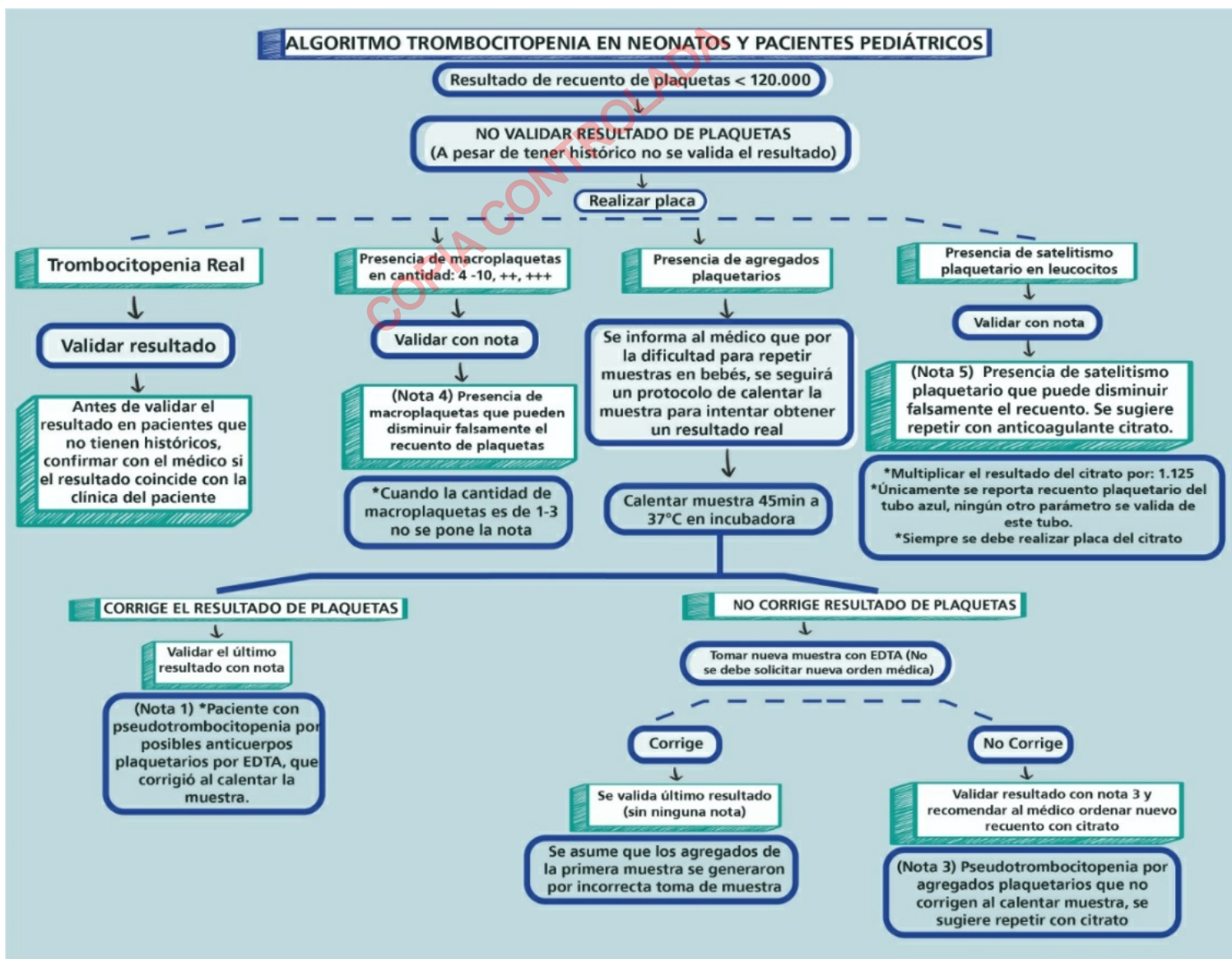
No se requiere ayuno para la realización de esta prueba.

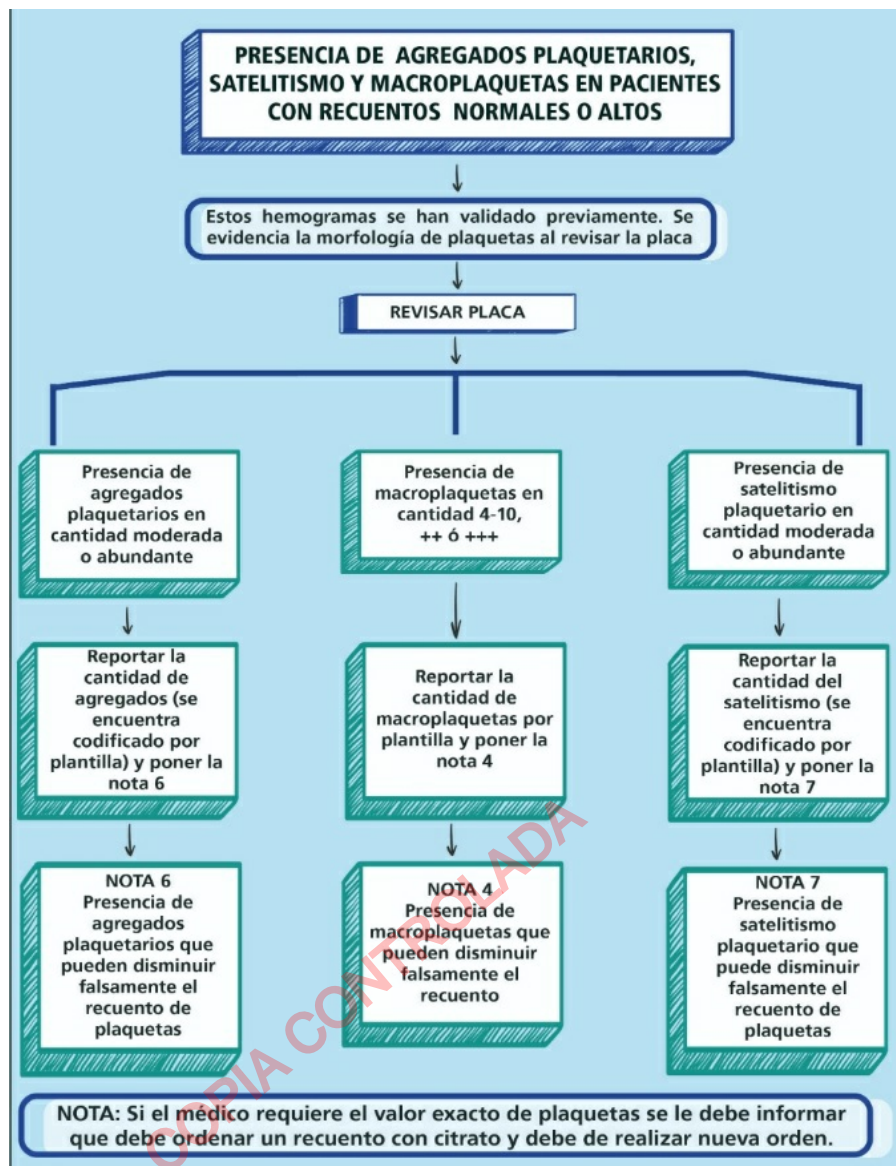
Adicional a las recomendaciones nacionales e internacionales para el reporte de la morfología de plaquetas, el laboratorio médico de referencia desarrolló los siguientes algoritmos para el reporte de la morfología y para resolver los casos de pseudo trombocitopenia cuando se generen

Es muy importante seguir paso a paso cada algoritmo para saber qué decisión se toma con la muestra, qué información se le da al médico y qué nota se debe poner en el resultado en cada caso

Los agregados plaquetarios y el satelitismo, (a diferencia de las macroplaquetas) no se reportan por cantidad (cruces), porque los consensos nacionales e internacionales no los especifican; sin embargo se considera importante reportarlos dado que la presencia de estos en cantidad moderada y abundante, puede alterar los recuentos de plaquetas.

Trombocitopenia en neonatos y pacientes





Trombocitopenia en adultos

ALGORITMO TROMBOCITOPENIA EN ADULTOS

Resultado de recuento de plaquetas < 120.000

NO VALIDAR RESULTADO DE PLAQUETAS
(A pesar de tener histórico no se valida el resultado)

Realizar placa

Trombocitopenia Real

Validar resultado

Antes de validar el resultado en pacientes que no tienen históricos, confirmar con el médico si el resultado coincide con la clínica del paciente

Presencia de macroplaquetas en cantidad: 4 -10, ++, +++

Validar con nota

(Nota 4) Presencia de macroplaquetas que pueden disminuir falsamente el recuento de plaquetas

* Cuando la cantidad de macroplaquetas es de 1-3 no se pone la nota

Presencia de agregados plaquetarios

Mirar tipo de paciente

Presencia de satelitismo plaquetario en leucocitos

Validar con nota

(Nota 5) Presencia de satelitismo plaquetario que puede disminuir falsamente el recuento. Se sugiere repetir con anticoagulante citrato.

* Multiplicar el resultado del citrato por: 1.125
* Únicamente se reporta recuento plaquetario del tubo azul, ningún otro parámetro se valida de este tubo.
* Siempre se debe realizar placa del citrato

AMBULATORIO

Calentar muestra 37°C 45 min (en incubadora)

Corrige

Validar el último resultado con nota

(Nota 1) *Paciente con pseudotrombocitopenia por posibles anticuerpos plaquetarios por EDTA, que corrigió al calentar la muestra.

No Corrige

Llamar al paciente para que venga al laboratorio a repetir la toma muestra con anticoagulante citrato

* Multiplicar el resultado del citrato por: 1.125
* Únicamente se reporta recuento plaquetario del tubo azul, ningún otro parámetro se valida de este tubo.
* Siempre se debe realizar placa del citrato

HOSPITALIZADO

Repetir muestra con anticoagulante citrato

No se debe solicitar nueva orden médica

* Multiplicar el resultado del citrato por: 1.125
* Únicamente se reporta recuento plaquetario del tubo azul, ningún otro parámetro se valida de este tubo.
* Siempre se debe realizar placa del citrato

Validar resultado del citrato con nota:

(Nota 2) Paciente con pseudotrombocitopenia por posibles anticoagulantes plaquetarios por EDTA, que corrigió al tomar muestra con citrato.

Conservación y estabilidad de las muestras: se realizó un estudio donde las muestras se almacenaron 48 h a temperatura ambiente (21 °C - 24 °C) y en frío (3 °C - 4 °C) los resultados obtenidos luego de analizarlos fueron reproducibles, no se encontraron señales de sospecha en las muestras procesadas antes de 24 h a temperatura ambiente y de 48 h al frío. Cuando el transporte de las muestras es por tubo neumático, éstas deben ser protegidas de vibraciones y golpes para evitar la desnaturalización de las proteínas y la activación de las plaquetas a través de la formación de espuma en la muestra.

7. Tubos utilizados

Tubo con EDTA, mezclar el anticoagulante con la muestra suavemente por inversión de 8 a 10 veces. Recoja las muestras utilizando los procedimientos de laboratorio estándar. No extraiga la muestra de un brazo por el que se esté administrando una transfusión intravenosa ya que se pueden ver alterados los resultados. Antes de su procesamiento, las muestras se deben poner en agitador mecánico durante 1 minuto a 10 rpm (primera línea del agitador) para asegurar su correcta homogenización, además, las muestras que no son tomadas por el personal del laboratorio se deben revisar con aplicador de madera para observar la presencia de coágulos.

El volumen de aspiración del instrumento Coulter DxH 600 es de 165 µL de muestra. Para procesar las muestras en el equipo en modo primario o cerrado, el volumen mínimo de sangre en los tubos debe ser de 1 mL y en lo posible no deben ser destapados antes de ser pasados por el equipo, el tamaño de los tubos para colocar en los casetes tipo A es de 12-16 mm, en casettes tipo C de 1-13 mm. Para tubos pediátricos se usan los casettes tipo D con diámetros de 7 y 13 mm pero adicionalmente incluyen un relleno de color verde para los tubos cortos

8. Instrumento de medición y reactivos

Analizador para hematología Unicel DxH600 y reactivo Diluyente DxH, éste es estable en temperaturas normales y presiones normales, mantener alejado de materiales incompatibles como ácidos fuertes, bases fuertes y oxidantes fuertes. Para mantener la eficacia del producto, almacenar de acuerdo con las instrucciones incluidas en la etiqueta de 2 °C a 40 °C.

Control de calidad

Conservación y Estabilidad del Control: vienen listos para el uso, se conservan entre 2 °C y 8 °C. Analizar los materiales de control (3 niveles) del mismo modo que las muestras de los pacientes, referirse al instructivo de control de calidad de hematología IT-HE-05. La frecuencia del montaje del control de calidad es de cada 12 h, esta frecuencia se determinó así para obtener en los diez primeros días, los datos suficientes para establecer límites de desempeño de las pruebas

Si los resultados del control de calidad están fuera del intervalo aceptable, investigar las causas antes de decidir informar o no los resultados de los pacientes.

Los datos obtenidos se digitan en el programa Unity Real time, en este sistema se debe verificar el desempeño en las gráficas integradas de control de calidad (Levey-Jennings y Error total) tomar medidas si es necesario. Para la valoración de la dispersión se emplea el método más clásico (Levey Jennings), se establece una media y una desviación estándar y coeficiente de variación. Los límites de desempeño en hematología se establecen de acuerdo a los estándares de variabilidad biológica

Para verificar el rendimiento del sistema analizar los materiales de control:

- De acuerdo con las normativas locales y al menos una vez cada día que se realice el ensayo.
- Luego de realizar los procedimientos de reparación especificados.

9. Interferencias

Eritrocitos muy pequeños cerca del límite superior, fragmentos de células, plaquetas aglutinadas con oxalato o heparina, fragmentos de plaquetas o desechos celulares cerca del límite inferior de plaquetas, plaquetas gigantes, agregados plaquetarios, fragmentos de leucocitos, ruido electrónico, eritrocitos muy pequeños y fragmentos de eritrocitos.

Si las muestras no se extraen, almacenan y transportan correctamente pueden producirse resultados incorrectos. Beckman Coulter Inc, recomienda seguir los procedimientos del comité nacional para las normas de laboratorio clínico (NCCLS) o procedimientos equivalentes para garantizar la correcta extracción, almacenamiento y transporte de muestras. Siempre siga las recomendaciones del fabricante al utilizar dispositivos de microextracción para la recogida de muestras capilares.

Si la muestra contiene coágulos se pueden obtener resultados erróneos, siempre usar buenas prácticas de laboratorio para buscar coágulos en las muestras y verificar los resultados. Si la muestra no se homogeniza correctamente pueden producirse resultados erróneos, siempre usar buenas prácticas de laboratorio para garantizar que las muestras se mezclen correctamente. No omita ni se salte los procesos de mezcla automática utilizados en los instrumentos DxH600. Recuento de leucocitos muy altos interfieren en el análisis, lipemia grave, heparina, ciertas anomalías de eritrocitos inusuales que resisten el lisado o cualquier cosa que aumente la turbidez de la muestra como los niveles elevados de triglicéridos.

Criterios de rechazo de muestras

Muestras coaguladas

Muestras que no cumplen la relación anticoagulante:muestra

10. Intervalo Biológico de referencia

Recuento entre 140 y 440 10^3 cells/ μ l para el sexo femenino y entre 150 y 440 10^3 cells/ μ l para el sexo masculino.

11. Valores Críticos

Recuentos menores o iguales a 50.000/ μ L y mayores o iguales a 1.000.000/ μ L .

En neonatos recuentos menores o iguales a 100 000/ μ L .

En maternas recuentos menores o iguales a 100 000/ μ L .

12. Interpretación por el laboratorio

El recuento de plaquetas de un individuo sano se encuentra entre 150,000 y 450,000 por μ L de sangre. El 95 % de los individuos sanos tendrán recuentos de plaquetas dentro de este rango. Algunos tendrán recuentos de plaquetas estadísticamente anormales sin tener ninguna anomalía demostrable. Sin embargo, si el recuento es muy alto o muy bajo la probabilidad de que una anomalía este presente es más alta.

Tanto la trombocitopenia como la trombocitosis pueden manifestarse como problemas de coagulación. En general, los recuentos bajos de plaquetas incrementan el riesgo de sangrado; sin embargo existen excepciones. Por ejemplo la trombocitopenia inmune inducida por heparina. En la trombocitosis se puede producir trombosis, sin embargo esto sucede principalmente cuando el recuento elevado es debido a desórdenes mieloproliferativos.

13. Precauciones de seguridad

Los reactivos son estables en temperaturas normales y presiones normales, mantener alejado de materiales incompatibles como ácidos fuertes, bases fuertes y oxidantes fuertes. Para mantener la eficacia del producto, almacenar de acuerdo con las instrucciones incluidas en la etiqueta de 2 °C a 30 °C .

14. Fuentes potenciales de variabilidad

Fumar, estrés, administración de fármacos, mantenimiento prolongado de la presión del torniquete, aspiración lenta que genera microcoágulos, sangre capilar en vez de sangre venosa, anticoagulante insuficiente o en exceso.

15. Bibliografía

1. Thon JN1, Italiano JE. Platelets: production, morphology and ultrastructure. Handb Exp Pharmacol. 2012;(210):3-22.
2. Campuzano-Maya G. Del hemograma manual al hemograma de cuarta generación. Medicina & Laboratorio 2007; 13: 511-550
3. Campbell, Neil A. (2008). Biology (8th edición). London: Pearson Education. p. 912. ISBN 978-0-321-53616-7. «Platelets are pinched-off cytoplasmic fragments of specialized bone marrow cells.
4. Interpretación clínica del laboratorio. 5Ta edición. Gilberto Angel M./ Mauricio Angel R.; Dacie y Lewis Hematología Práctica. 10.a Edición. S.M.Lewis - B.J.Bain. L.Bates.
5. Guía manual del usuario equipo Beckman Coulter DxH600.

Si este documento se encuentra impreso no se garantiza su vigencia, por lo tanto es copia NO CONTROLADA, la versión actual se encuentra en Solución

VERSION	FECHA	RAZON DE LA ACTUALIZACION
00	11/Oct/2013	Se revisa el documento y no es necesario realizar cambios.
00	19/Ene/2015	Se revisa el instructivo y no es necesario modificarlo.
01	21/Ene/2016	Se actualiza según indicaciones para el Coulter LH 750.
01	16/Feb/2017	Se revisa y no se modifica.
01	02/Feb/2018	Se revisa y no se modifica.
02	15/Ene/2019	Se ajusta por cambio de instrumento de medición
02	13/Feb/2020	Se revisa y no se modifica.
03	04/Ene/2021	Se adiciona intervalo de medición de la sede Centro y de la sede Tesoro
03	17/Ene/2022	Se revisa y no se modifica.
03	16/Ene/2023	Se revisa y no se modifica.
03	09/Ene/2024	Se revisa y no se modifica.
03	23/Ene/2025	Se revisa y no se modifica.
04	04/Sep/2025	Se modifican los valores críticos.



ELABORO	REVISO	APROBO
Nombre: Yulime Andrea Monsalve Martinez Cargo: Dirección de Calidad Fecha: 04/Sep/2025	Nombre: Xiomara Gutierrez Cargo: Bacteriólogo(a) de Hematología Tesoro Fecha: 04/Sep/2025	Nombre: Carlos Gonzalo Robledo Restrepo Cargo: Director General Fecha: 05/Sep/2025

COPIA CONTROLADA