

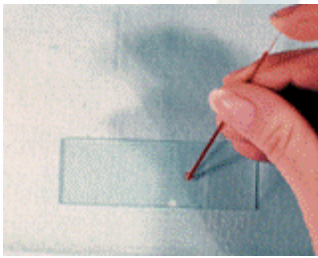
Frotis sanguíneo

El objetivo de realizar una extensión de sangre periférica o frotis sanguíneo es obtener una delgada capa de sangre sobre un portaobjetos, que luego teñiremos con una coloración específica con el fin de poder evaluar la proporción de cada leucocito (fórmula leucocitaria relativa) y la morfología de las células sanguíneas (leucocitos, eritrocitos y plaquetas).

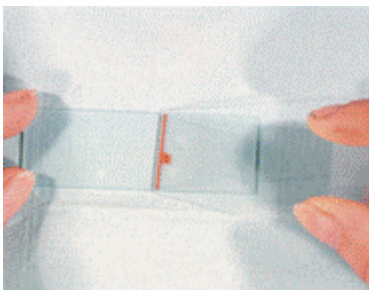
Los frotis sanguíneos deben realizarse inmediatamente cuando se utiliza sangre fresca, o dentro de las 2-3 horas de la extracción si se añade anticoagulante (preferiblemente EDTA, ya que no produce deformación de las células)

Procedimiento

1.- Se coloca una gota de sangre, en un lado y en el centro de un portaobjetos, bien limpio y desengrasado, previamente rotulado con una identificación del animal.

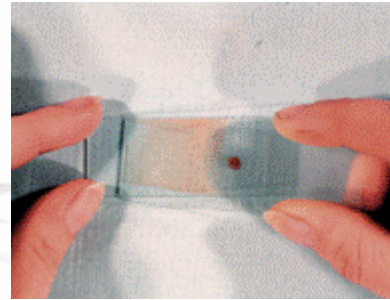


2.- Se coge un segundo portaobjetos con el borde esmerilado, se coloca en un ángulo de aproximadamente 30° con respecto al porta horizontal y se permite que éste tome contacto con la gota de sangre. La sangre se distribuirá por capilaridad a lo largo del borde del portaobjetos extensor.



3.- El porta con el que se hace la extensión se desliza, bien colocado y sin hacer presión, lo más perfectamente aplicado en su borde contra el porta horizontal, sobre el que se hace la extensión. Sólo debe pasarse una vez, de forma continua e ininterrumpida. Es conveniente realizar

dos o tres extensiones, con el fin de seleccionar la mejor.



4.- Secar el frotis al aire lo más rápidamente posible.

La desecación se facilita con movimiento en forma de abanico, nunca soplando o por calor. La desecación rápida evita la deformación de las células sanguíneas.

5.- Fijar la preparación Dejar caer sobre la extensión sanguínea unas gotas de metanol y esperar que el alcohol se evapore. Este procedimiento fija las células sobre el porta y las permeabiliza, permitiendo la entrada del colorante.

6.- Teñir con el método de Wright o Giemsa preferido. El reactivo de Wright contiene una mezcla de colorantes rojos y azules que son acidófilos (reaccionan con sustancias ácidas) y basofílicos (reaccionan con sustancias básicas), respectivamente

7. Lavar la preparación con cuidado, sosteniendo por un extremo el portaobjetos a 45° bajo un chorro suave de agua destilada y dejando que ésta pase sobre la extensión hasta que arrastre todo el colorante.

8. Secar el porta aireándolo, o bien al calor moderado.

9. Una vez seco, se observa con un microscopio

Observación microscópica

En hematología, el frotis sanguíneo es el test más simple y de más valor diagnóstico, pero hay que realizar siempre un estudio sistemático y ordenado,

Primeramente se observa a bajos aumentos (10x, 40x), para un estudio global del frotis, apreciar su calidad y localizar la zona en la que el frotis es más adecuado para su lectura. Un frotis correcto será mas grueso cerca de la gota de sangre y la capa de sangre se irá afinando hacia el final del portaobjetos. Los lugares más aptos ó áreas de lectura son aquellos en los que la extensión de las células se ha conseguido en una sola capa, los eritrocitos se tocan entre sí pero no están superpuestos, están bien teñidos y no se han producido precipitados de los colorantes. Cuando se observe una zona apta, pasar a aumento de 100x, utilizando una pequeña gota de aceite de inmersión directamente sobre el frotis en la zona a observar.