

OBTENCIÓN Y TINCIÓN DE UN FROTIS DE SANGRE IDENTIFICACIÓN DE LAS CÉLULAS SANGUÍNEAS

| TIPO CELULAR | ASPECTO | TAMAÑO | ABUNDANCIA RELATIVA | FUNCIONES | |
|--------------------|---|--|---|---|--|
| ERITROCITOS | Forma de disco bicóncavo. Anucleados. Dan el color rojo a la sangre por poseer hemoglobina. | 7 μm (referencia) | ~700 por cada leucocito | Transporte de oxígeno (98%) y, secundariamente, dióxido de carbono (25%). | |
| LEUCOCITOS | | | ~1 por cada 700 eritrocitos | | |
| GRANULOCITOS | NEUTRÓFILOS | Núcleo con 3-5 lóbulos unidos por un filamento. Granulación muy fina, difícilmente perceptible. | 12 μm | ~1 de cada 2 leucocitos | Fagocitosis. Pueden abandonar el torrente circulatorio y penetrar en los tejidos para realizar allí la fagocitosis. |
| | EOSINÓFILOS | Núcleo con dos lóbulos unidos por un delgado filamento. Las granulaciones acidófilas dan una coloración rojiza al citoplasma. | 9 μm | ~3 de cada 100 leucocitos | Fagocitan los complejos antígeno-anticuerpo. Su número aumenta en las reacciones alérgicas y en las infecciones parasitarias. |
| | BASÓFILOS | Núcleo voluminoso bilobulado. Los gránulos basófilos son gruesos, tiñen el citoplasma de color oscuro y frecuentemente dificultan la observación del núcleo. | 12 μm | ~1 de cada 200 leucocitos | Contienen heparina (anticoagulante) e histamina (vasodilatador). Responsables de los cambios producidos en los vasos sanguíneos durante los procesos inflamatorios. |
| AGRANULOCITOS | LINFOCITOS | Núcleo esférico que ocupa la mayor parte de la célula. Citoplasma muy escaso. | 6-8 μm | ~1 de cada 3 leucocitos | Producen anticuerpos. Son responsables del rechazo de los injertos y los trasplantes. |
| | MONOCITOS | Núcleo ovoide, en forma de riñón o de herradura. El núcleo es más claro que el de los linfocitos (cromatina menos densa) | 9-12 μm | ~1 de cada 15 leucocitos | Fagocitosis. Se vuelven muy activos después de atravesar la pared de los capilares y penetrar en el tejido conjuntivo. Fagocitan sobre todo virus, hongos y protozoos. |
| TROMBOCITOS | Anucleados. Esféricos, ovales o alargados. Aparecen en grupos (aglutinados) en las extensiones. | 3 μm | Difícil de estimar por aparecer aglutinados | Forman un tapón cuando los vasos sanguíneos son lesionados. Liberan tromboplastina, que interviene en la formación del coágulo, y serotonina, un vasoconstrictor. | |

Cuestiones

- Además de los que aparecen en la tabla anterior, ¿qué otros componentes constituyen la sangre?

- ¿Dónde se forman las células sanguíneas?

Material

- Algodón
- Alcohol
- Lancetas estériles
- Portaobjetos
- Frascos de tinción
- Microscopio

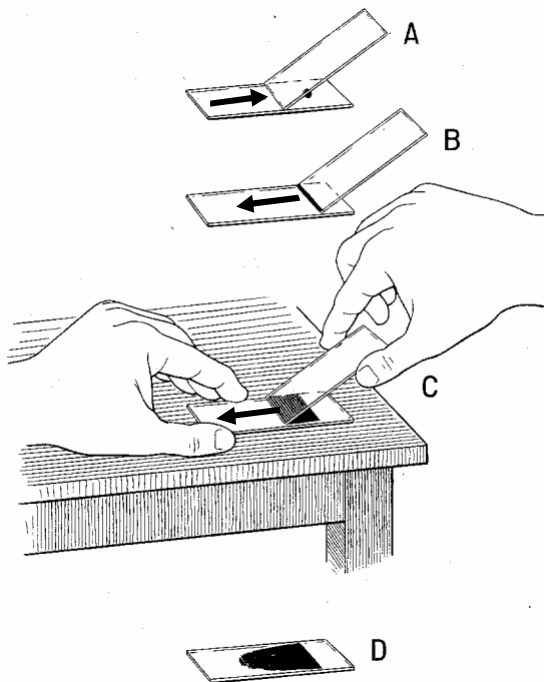
Reactivos

- Set de coloración rápida para frotis sanguíneos Diff-Quik:

| | |
|--|---|
| Solución fijadora (Fast Green en metanol) | Evita el deterioro de la estructura celular |
| Solución colorante I (Eosina G en tampón fosfato) | Tiñe de rosa pálido el citoplasma y las granulaciones acidófilas (eosinófilas) |
| Solución colorante II (Tiazina en tampón fosfato) | Tiñe de color azul-violeta oscuro los núcleos de las células y las granulaciones basófilas. |

Procedimiento

- Con un algodón empapado en alcohol limpia el dedo que te vayas a pinchar.
- Coge una lanceta estéril —por el extremo en el que no está el pincho, para que se mantenga estéril— y pínchate en la yema del dedo. El pinchazo debe ser profundo, de tal manera que la sangre salga por simple flexión de la falange, sin necesidad de apretar. Una vez recogida la sangre necesaria vuelve a limpiar el dedo con el algodón mojado en alcohol.
- Deposita una gota de sangre en un extremo del porta.
- Para realizar el frotis (extensión) se procede como indica el dibujo.



- A. Deposita una pequeña gota de sangre en un extremo del portaobjetos. Si la cantidad de sangre es excesiva las células quedarán apelotonadas en la extensión y será difícil observarlas.

Coloca el segundo portaobjetos formando un ángulo de unos 45° con el primero y asegurándote de que apoya todo el borde.

Desliza lentamente el portaobjetos hacia la gota de sangre hasta que entren en contacto. Verás como la sangre se extiende por el borde.

- B. Desliza ahora el porta en el sentido contrario en un movimiento rápido y procurando que no pierda el contacto con el otro.
- C. Todo el procedimiento se debe realizar apoyado en la mesa y sujetando el porta como indica el dibujo.
- D. Deja secar el frotis al aire antes de comenzar el proceso de tinción.

- Sumerge el portaobjetos con la extensión de sangre durante un segundo en la solución fijadora, déjalo escurrir y vuelve a sumergirlo durante otro segundo y repite el procedimiento hasta haber completado diez inmersiones de un segundo.
- Repite el procedimiento con las soluciones colorantes I y II. Es importante que no se altere el orden de los colorantes, ya que, de otra manera, no se obtendría el resultado esperado. Debes evitar también la contaminación de unos líquidos con otros.
- Por último debe lavarse el exceso de colorante con abundante agua. El chorro de agua no debe ser fuerte, para evitar que arrastre las células sanguíneas. La mejor manera es colocar el porta inclinado y dejar caer un pequeño chorro de agua sobre el extremo superior.

Observación

Las células más abundantes son, con gran diferencia, los eritrocitos. Son células anucleadas y quedan teñidos de color anaranjado pálido. Se puede observar distinta intensidad de coloración entre el centro y la periferia, debido a su forma característica de disco bicóncavo.

Si recorremos la extensión lentamente, de vez en cuando nos llamarán la atención los leucocitos, generalmente más grandes que los eritrocitos y con sus núcleos intensamente teñidos de color azul-violeta. Utiliza el cuadro de los elementos formes de la sangre para intentar identificar los distintos tipos de leucocitos; los rasgos que te van a ser más útiles en la identificación son: el tamaño de las células, que podrás determinar por comparación con los glóbulos rojos, la forma del núcleo y la coloración del citoplasma.

Las plaquetas son difíciles de identificar porque se confunden con partículas de polvo u otras impurezas que aparecen dispersas por la extensión, pero son bastante abundantes.

Dibujos

Dibuja los tipos celulares que observes, calcula su tamaño aproximado utilizando como referencia el de los glóbulos rojos e indica el número de células de cada tipo que has podido ver. Señala qué rasgos te han permitido identificar cada tipo de célula. No olvides poner junto a cada dibujo los aumentos con los que has realizado la observación.

| | | |
|---|---------------------------------|------------------------------------|
| X | Eritrocitos | Tamaño aproximado: 7 μm |
| | Cantidad de células observadas: | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |

| | | |
|---|---------------------------------|--------------------|
| X | Neutrófilos | Tamaño aproximado: |
| | Cantidad de células observadas: | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |

| | | |
|---|--|--------------------|
| X | Linfocitos | Tamaño aproximado: |
| | Cantidad de células observadas: | |
| | Se diferencian de las otras células sanguíneas en: | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |

| | | |
|---|--|--------------------|
| X | Monocitos | Tamaño aproximado: |
| | Cantidad de células observadas: | |
| | Se diferencian de las otras células sanguíneas en: | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |

| | | |
|---|--|--------------------|
| X | Eosinófilos | Tamaño aproximado: |
| | Cantidad de células observadas: | |
| | Se diferencian de las otras células sanguíneas en: | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |

| | | |
|---|--|--------------------|
| X | Basófilos | Tamaño aproximado: |
| | Cantidad de células observadas: | |
| | Se diferencian de las otras células sanguíneas en: | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |