

TÉCNICAS DE PREPARACIÓN DE “EXTENDIDOS” PARA ANÁLISIS SEMINAL

Para analizar de forma integral una muestra seminal, se requiere hacer “extendidos” de buena calidad. El no tener un entrenamiento formal de laboratorio, de ninguna manera impide al técnico o al veterinario dedicado a la andrología, implementar procedimientos sencillos y razonables, que permitan realizar de forma adecuada extendidos confiables y examinarlos correctamente al microscopio. El seguimiento de las siguientes recomendaciones permite alcanzar buenos resultados.

1. Limpie de manera rigurosa las laminas, estas deben estar libres de grasa o cualquier material oleoso, para ello lave las laminas con agua destilada, sumérlas en alcohol y finalmente séquelas con una tela libre de motas o en su defecto con papel absorbente de buena calidad.
2. Mantenga las laminas y el colorante a una temperatura de 35-38 °C, ya que las temperaturas mas frías pueden causar muerte espermática, por otra parte el eyaculado colectado, debe ser mantenido también a 35-38 °C con el propósito de permitir que la temperatura del semen sea igual a la de los materiales empleados.
3. Mezcle bien la muestra de semen, para ello invierta el tubo de colección varias veces, deposite una gota de semen sobre la lamina precalentada a 35-38 °C, evite que la gota contenga burbujas, si las tiene reviéntelas con la esquina de una laminilla.
4. Observe la gota con el objetivo de menor aumento (100x), la lamina debería ser colocada sobre una platina calentadora a una temperatura 35-38 °C. Valorando el grado de vigor de la muestra, esta observación permite obtener una estimado inicial de la razón de (espermatozoides vivos/ espermatozoides muertos).
5. Adyacente a la gota de semen, deposite una gota de colorante precalentado a 38°C, el colorante depositado debe tener un volumen similar a la gota de semen, es importante señalar que inicialmente ambas gotas (colorante y semen) no deben entrar en contacto.
6. Para realizar el extendido posicione a 45°, una segunda lamina sobre la lamina que contiene las gotas de semen y colorante, desplace el borde de la placa hacia la gota de colorante permitiendo que el colorante se distribuya uniformemente a través del borde de la placa, en este momento el semen no debe ser mezclado con el colorante.
7. Dirija el borde de la placa impregnado de colorante hacia la gota de semen, realice de 8 a 10 movimientos que garanticen una mezcla uniforme del semen con el colorante, inmediatamente sobre una tercera lamina precalentada a 38°C, de manera rápida y uniforme desplace a 45° el borde cubierto de la mezcla de semen y colorante. El resultado esperado es una película delgada y uniforme la cual debería cubrir la totalidad de una lamina portaobjetos.
8. Inmediatamente realizado el frotis, caliente y seque de manera rápida el extendido, para ello se puede flamear levemente el reverso de la placa portaobjetos, también puede ser útil soplar suavemente.
9. Una vez el extendido está seco, observe la placa portaobjetos con el objetivo de menor aumento, es importante señalar que la luz atenuada permite una observación más acertada.