

**MODIFICACION DEL METODO DE FIELD DILUIDO PARA
LA COLORACION DE MUESTRAS DE SANGRE EN EL
DIAGNOSTICO DEL PALUDISMO**

Dr. Daniel Flórez Pedrozo M.D. M.S.P (1)

1. INTRODUCCION

La coloración de la sangre siempre ha sido complicada por la gran variabilidad que ofrece el azul de metileno, del cual se derivan prácticamente todos los colorantes utilizados en la coloración de muestras de sangre.

La gota gruesa se coloreaba inicialmente cubriendo una gota espesa y grande con azul de metileno diluido, pero como casi no existía visibilidad en la parte central se optó por desfibrinar la sangre para facilitar el diagnóstico.

El hallazgo de la propiedad deshemoglobinizante de las sales isotónicas del azul de metileno efectuado por Pampana, contribuyó a la obtención de mejores coloraciones, al precederlas de un pretratamiento con una solución de azul de metileno fosfatado.

Mediante ese paso previo se logran coloraciones que ofrecen campos limpios a la observación microscópica, facilitando la identificación de elementos sanguíneos y de parásitos.

El método de Field, de coloración rápida para gota gruesa, consiste en una sumersión de 1 a 3 segundos en solución "A" (una mezcla de azul de metileno y fosfatos), seguida de un enjuague breve en agua destilada y una sumersión similar en solución "B" (una mezcla de eosina y fosfatos).

2. FORMULA EMPLEADA

2.1 Solución "A"

Azul de metileno medicinal	0.8 grs.
Azur "A"	0.5 grs.
Solución sales amortiguadoras 4/5	250 ml.

(1) Jefe de Epidemiología del SEM, Ministerio de Salud Pública, Bogotá, Colombia.

2.2 Solución "B"

Eosina amarilla s.a	1 gr.
Solución sales amortiguadoras 4/5	250 ml.

La solución de sales amortiguadoras 4/5 se prepara disolviendo en un litro de agua destilada, un gramo de una mezcla de fosfato bisódico anhidro (4 grs) y fosfato monopotásico (5 grs).

2.3 Azul de metileno fosfatado

Azul de metileno medicinal	1 gr.
Ortofosfato disódico, anhidro	3 grs.
Ortofosfato monopotásico	1 gr.

Se prepara disolviendo un gramo de azul de metileno fosfatado en 300 ml. de agua destilada.

3. MATERIAL NECESARIO

Una placa curva para coloración o charola esmaltada
Una probeta graduada de 10 a 20 ml.
Dos frascos goteros de plástico de 30 ó 60 ml.
Un vaso de plástico
Un gotero
Un laminero de madera
Una esponja
Azul de metileno medicinal
Azur "A"
Eosina amarilla (soluble en agua)
Fosfato bisódico anhidro (Na_2HPO_4)
Fosfato monopotásico (KH_2PO_4)

4. TECNICA DEL PROCEDIMIENTO

En una probeta graduada se mezclan volúmenes de solución acuosa de sales amortiguadoras 4/5 con cantidades de solución "A" y solución "B" en partes iguales, teniendo como base la proporción siguiente por cada lámina a colorear:

Sales amortiguadores 4/5	3 c.c
Solución "A"	1 gota
Solución "B"	1 gota

Sumérjase el portaobjetos durante un segundo en la solución de azul de metileno fosfatado, colocándolo inmediatamente por el extremo libre sobre una esponja plástica, a fin de eliminar rápidamente el exceso de azul.

Colóquense las láminas hacia abajo sobre la depresión de una placa curva para coloración o de una charola esmaltada. Déjese deslizar la solución de Field acabada de preparar por debajo del portaobjetos hasta que llene

la depresión. Quítense las burbujas que se formen en la gota gruesa o cerca de ella. Déjese actuar el colorante durante 9 minutos.

Lávese el portaobjetos con agua amortiguadora 4/5 utilizando para ello el contenido de un gotero lleno.

Escúrrase y déjese secar.

Examínese con objetivo de inmersión.

5. VENTAJAS DEL METODO

Con este método se obtienen preparaciones excelentes, que ofrecen las ventajas siguientes:

- a) Procedimiento simplificado, en el cual no es necesario el lavado del portaobjetos después de su inmersión en azul de metileno.
- b) Facilidad de manejo
- c) Obtención de preparaciones en las cuales se evita la frecuencia de precipitados, pues sólo se emplean medios acuosos de dilución y no gliceroalcohólicos.
- d) Consumo de colorante mínimo y de menor valor en relación con el colorante de Giemsa.

BIBLIOGRAFIA

1. Boyd, Mark Frederick. *Malariology*. Philadelphia, Saunders, 1949.
2. Field, John W. *The microscopic diagnosis of human malaria; Part I; a short descriptive atlas of thick film diagnosis*. Kuala Lumpur, Govt. Press, 1948. p.116.
3. -----, "A simple and rapid method of staining malarial parasites in thick blood smears". *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 34:195-202, 1940.
4. -----, "A simple method of preserving the outline of leukocytes malarial parasites in Giemsa stained thick blood films". *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 33:625-638, 1940.
5. -----, and A.A. Sandosham. "The Romanowsky stains aqueous or methanolic" *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 58:164-172, 1964.
6. López Antaño, F. J. *Coloración de field diluido*. 1970 (Documento de trabajo inédito).
7. Shute, Percy G. and Maryon E. Maryori. *Laboratory technique for the study of malaria*. London, Churchill, 1960.
8. Singh, J. and J.S.B. Stain. "A review" *Indian J. Malariol* 10(2):117-129, 1956.
9. Misra, J.B. and J.S.B. Stain. "Simplified method of preparation" *Indian J. Malariol* 10(2):115-116, 1956.
10. Singh, J. et. al. "Its preparation in the powder form and the staining technique" *Indian J Malariol*. 7(3):267-270, 1953.
11. Walker, A. J. *Manual para el diagnóstico microscópico de la malaria*. 2ed. s.l., s.e., 1965. p. 49-51.