

APLICACIÓN

El sistema de tinción Sudan Black B de Sigma-Aldrich se utiliza en la demostración histoquímica de gránulos neutrófilos en frotis de sangre o médula ósea. El sistema de tinción Sudan Black B es para uso diagnóstico *in vitro*.

Varios lípidos, incluyendo los fosfolípidos, las grasas neutras y los esteroides, se tiñen intensamente con Sudan Black B. La reacción de los gránulos neutrófilos con el tinte fue descrita por Sheehan y Storey en 1947¹. Generalmente, el patrón de tinción leucocitaria de Sudan Black B es parecido al de la mieloperoxidasa². Las células que se encuentran a lo largo de las vías linfáticas muestran una tinción negativa, mientras que las formas mieloides y monocitoides muestran las reacciones positivas características. Por lo tanto, Sudan Black B está considerado como un auxiliar útil en la identificación de las leucemias mielocíticas y mielomonocíticas².

Los métodos antiguos utilizaban una fijación de vapor de formaldehído en los frotis de sangre², técnica que puede dar como resultado una pérdida celular y artefactos de tinción. El procedimiento de Sigma-Aldrich utiliza un fijador de glutaraldehído tamponado y un tiempo de incubación más corto, lo que da como resultado una excelente tinción sin pérdida celular ni distorsión³.

REACTIVOS

REACTIVO DE TINCIÓN SUDAN BLACK B, número de catálogo 380-1
Sudan Black B, 0,18 % (p/v), en 69 % de etanol y con fenol tamponado con fosfato.

SOLUCIÓN DE HEMATOXILINA, GILL N° 3, número de catálogo GHS-3
Hematoxilina certificada, 6 g/l, yodato sódico, 0,6 g/l, sulfato de aluminio, 52,8 g/l, y estabilizante.

SOLUCIÓN DE GLUTARALDEHÍDO, número de catálogo 380-2
Glutaraldehído, 4 % en tampón borato, pH 7,6.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD:

Almacenar el reactivo de tinción Sudan Black B a temperatura ambiente (18–26 °C). La etiqueta del reactivo indica la fecha de caducidad.

Almacenar la solución de hematoxilina, Gill N° 3 a temperatura ambiente (18–26 °C), protegida de la luz. La etiqueta del reactivo indica la fecha de caducidad. Filtrar antes de su uso. Se recomienda devolver el material a su envase original después de su uso. Desechar si la solución se vuelve marrón (sobreoxidación por aire) o púrpura (pérdida de acidez).

Almacenar la solución de glutaraldehído en el frigorífico (2–8 °C). La etiqueta del reactivo indica la fecha de caducidad. Desechar si presenta turbidez.

La solución fijadora de glutaraldehído es estable durante varios meses si se almacena en una botella de vidrio cerrada herméticamente y guardada en el frigorífico (2–8 °C).

PREPARACIÓN:

Preparar la solución fijadora añadiendo 25 ml de ACS o acetona de grado reactivo a 75 ml de solución de glutaraldehído, número de catálogo 380-2.

PRECAUCIONES:

Se deben seguir las precauciones normales ejercidas en el manejo de reactivos de laboratorio. Deshágase de los desechos observando todas las normativas locales, regionales y nacionales. Consulte la Hoja de datos de seguridad del material para obtener cualquier información actualizada sobre riesgos, peligros o seguridad.

Declaración de riesgos y seguridad (EE.UU.)

El reactivo de tinción Sudan Black B es **INFLAMABLE** y **PERJUDICIAL**. Altamente inflamable. Perjudicial por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Perjudicial: posible riesgo de efectos irreversibles por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Irritante para los ojos, sistema respiratorio y piel. Mantener alejado de las llamas – no fumar. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Usar ropa protectora adecuada, guantes y protección para los ojos y el rostro.

La solución de glutaraldehído es **TÓXICA**. Perjudicial en caso de ingestión. Tóxica por inhalación. Irritante para el sistema respiratorio y la piel. Riesgo de daño grave para los ojos. Puede causar sensibilización por inhalación y contacto con la piel. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Usar ropa protectora adecuada, guantes y protección para los ojos y el rostro. En caso de accidente o malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible).

La solución de hematoxilina Gill N° 3 es **PERJUDICIAL**. Perjudicial en caso de ingestión. Irritante para los ojos, sistema respiratorio y piel. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Usar ropa y guantes protectores adecuados. Órganos a los que afecta: hígado y riñones.

La acetona es **INFLAMABLE** e **IRRITANTE**. Irritante para los ojos. Una exposición reiterada puede causar sequedad o grietas en la piel. Los vapores pueden causar somnolencia o mareo. Mantener el envase en un lugar bien ventilado. Mantener alejado de las llamas – no fumar. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica.

Declaración de riesgos y seguridad (U.E.)

El reactivo de tinción Sudan Black B es **ALTAMENTE INFLAMABLE** y **PERJUDICIAL**. Altamente inflamable. Perjudicial por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Perjudicial: posible riesgo de efectos irreversibles por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Irritante para los ojos, sistema respiratorio y piel. Mantener alejado de las llamas – no fumar. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Usar ropa protectora adecuada, guantes y protección para los ojos y el rostro.

La solución de glutaraldehído es **PERJUDICIAL**. Perjudicial en caso de inhalación e ingestión. Irritante para el sistema respiratorio y la piel. Riesgo de daño grave para los ojos. Puede causar sensibilización por inhalación y contacto con la piel. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Usar ropa protectora adecuada, guantes y protección para los ojos y el rostro. En caso de accidente o malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible).

La solución de hematoxilina Gill N° 3 es **PERJUDICIAL**. Perjudicial en caso de ingestión. Irritante para los ojos, sistema respiratorio y piel. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Usar ropa y guantes protectores adecuados.

La acetona es **ALTAMENTE INFLAMABLE** e **IRRITANTE**. Altamente inflamable. Irritante para los ojos. Una exposición reiterada puede causar sequedad o grietas en la piel. Los vapores pueden causar somnolencia o mareo. Mantener el envase en un lugar bien ventilado. Mantener alejado de las llamas – no fumar. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica.

PROCEDIMIENTO

RECOGIDA DE LA MUESTRA:

Se recomienda que la recogida de la muestra se lleve a cabo de acuerdo con las directrices del documento M29-A2 de la NCCLS. Ningún método de prueba puede garantizar la completa seguridad de que las muestras de sangre o tejido no transmitan infecciones. Por lo tanto, todos los derivados de la sangre o tejido deben considerarse potencialmente infecciosos.

Pueden utilizarse frotis de sangre total o anticoagulada o de médula ósea recién preparados. Fijar cuanto antes.

MATERIAL ESPECIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO:

Acetona, reactivo ACS

NOTAS:

A efectos de comprobación del funcionamiento del sistema, se recomienda procesar los frotis de sangre procedentes de donantes sanos junto con las muestras de paciente.

Los datos obtenidos mediante este procedimiento sólo sirven como ayuda en el diagnóstico y deben ser revisados junto con otras pruebas clínicas o información de diagnóstico.

PROCEDIMIENTO:

1. Enfriar la solución fijadora de glutaraldehído en el frigorífico (2–8 °C).
2. Las extensiones o frotis de sangre o médula ósea se fijan durante 1 minuto a 2–8 °C con una suave agitación seguida de un lavado concienzudo con agua desionizada.
3. Para teñir con el reactivo de tinción Sudan Black B, número de catálogo 380-1, sumergir durante 5 minutos con agitación intermitente.
4. Enjuagar 3 veces o más en etanol al 70 % hasta que ya no desprenda tinte. Seguidamente, enjuagar a fondo con agua destilada.
5. Contrateñir con solución de hematoxilina, Gill N° 3, número de catálogo GHS-3, durante 5 minutos y seguidamente enjuagar a fondo con agua del grifo.
6. Después de secar al aire, los portaobjetos pueden montarse en DPX para histología, o en otro medio de montaje permanente que sea adecuado.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Los neutrófilos y sus precursores muestran una granulación intracelular azul-negra². Los monocitos se tiñen menos intensamente y los linfocitos no se tiñen con Sudan Black B².

Los frotis de sangre procedentes de donantes normales se tiñeron con Sudan Black B de acuerdo con el procedimiento descrito y mediante el método clásico de Sheehan-Storey¹. Los neutrófilos mostraron una granulación azul-negra con el procedimiento N° 380 de Sigma-Aldrich y también con el procedimiento de Sheehan-Storey. En ambos casos, los monocitos se tiñeron menos intensamente y los linfocitos no mostraron ninguna actividad de mieloperoxidasa.

Si los resultados observados varían de los esperados, póngase en contacto con el Servicio Técnico de Sigma-Aldrich.

REFERENCIAS

1. Sheehan HL, Storey GW: An improved method of staining leukocyte granules with Sudan Black B. *J Pathol Bacteriol* 59:336, 1947
2. Davey FR, Nelson DA: Sudan Black B Staining. IN *Hematology*, 2nd ed. WJ Williams, E Beutler, AJ Erslev, RW Rundles, Editors, McGraw-Hill, New York, 1977, pp 1629–1630
3. Hanker JS, Laszlo J, Moore JO: The light microscopic demonstration of hydroperoxidase-positive phi bodies and rods in leukocytes in acute myeloid leukemia. *Histochemistry* 58:241, 1978

Sigma-Aldrich, Inc. garantiza que sus productos concuerdan con la información contenida en ésta y otras publicaciones de Sigma-Aldrich. El comprador debe determinar la idoneidad de los productos para su uso particular. Es posible que deban aplicarse términos y condiciones adicionales. En el reverso de la factura o del albarán se incluyen los términos adicionales y las condiciones de venta.

Procedimiento número 380
Revisión anterior: 2003-03
Revisión: 2003-09



AR-MED Ltd., Runnymede Malthouse
Egham TW20 9BD Reino Unido

SIGMA-ALDRICH, INC.
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 EE.UU. +1 314 771 5765
Servicio Técnico: a cobro revertido al +1 314 771 3122
o por correo electrónico a clintech@sial.com
Para pedidos: a cobro revertido al +1 314 771 5750
www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH
P.O. 1120, 89552 Steinheim, Alemania 49-7329-970