

APLICACIÓN

Las soluciones de hematoxilina Gill son tinciones nucleares para uso en histología y citología. Las soluciones de hematoxilina Gill Nº 1, 2 y 3 están diseñadas para uso diagnóstico *in vitro*.

La hematoxilina, una tinción nuclear común, se aísla de un extracto de madera (Haematoxylon campechianum)¹. El primer éxito en la aplicación biológica de la hematoxilina fue descrito por Bohmer² en 1865. Desde entonces, han aparecido muchas fórmulas, de las cuales sólo han mantenido su popularidad las de Harris, Gill, Mayer y Weigert. Antes de poder utilizar la hematoxilina como tinción nuclear, la misma debe ser oxidada en hemateína y combinada con un ión metálico (mordiente). Los mordientes más populares son las sales de aluminio o hierro.

Generalmente, las hematoxilinas se clasifican como progresivas o regresivas según la concentración de la tinción. Las tinciones progresivas (p.ej., hematoxilina de Mayer) tienen una baja concentración de tinción y tiñen selectivamente la cromatina nuclear. La intensidad deseada es una cuestión de tiempo. Las tinciones regresivas (p.ej., hematoxilina de Harris) tiñen intensamente todas las estructuras nucleares y citoplásmicas. Para obtener la respuesta cromática correcta, debe retirarse el exceso de tinte mediante tratamiento con ácido diluido (diferenciación).

La formulación Gill Nº 1 se utiliza como tinción citológica progresiva, mientras que las formulaciones Gill Nº 2 y 3 pueden utilizarse como tinción progresiva o regresiva según la duración del tiempo de tinción. Estas soluciones de hematoxilina se fabrican como hematoxilina medio oxidada, con mordiente de aluminio y estabilizada con glicoles. El complejo aluminio-hemateína con carga positiva se combina con grupos de fosfatos con carga negativa de ADN nuclear, formando el color azul-púrpura característico de las tinciones con hematoxilina.

REACTIVOS

SOLUCIÓN DE HEMATOXILINA GILL Nº 1, número de catálogo GHS-1

Hematoxilina certificada, 2 g/l, yodato sódico, 0,2 g/l, sulfato de aluminio, 17,6 g/l, y estabilizantes.

SOLUCIÓN DE HEMATOXILINA GILL Nº 2, número de catálogo GHS-2

Hematoxilina certificada, 4 g/l, yodato sódico, 0,4 g/l, sulfato de aluminio, 35,2 g/l, y estabilizantes.

SOLUCIÓN DE HEMATOXILINA GILL Nº 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 estabilizantes.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD:

Almacenar los reactivos a temperatura ambiente (18–26 °C), protegidos de la luz. Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

DETERIORO:

Desechar si las soluciones se vuelven marrón (sobreoxidación por aire) o púrpura (pérdida de acidez).

PREPARACIÓN:

Las soluciones de hematoxilina Gill Nº 1, 2 y 3 se presentan listas para su uso.

El sustituto del agua corriente Scott se prepara diluyendo 1 volumen de concentrado de Scott, en 9 volúmenes de agua desionizada.

PRECAUCIONES:

Se deben seguir las precauciones normales ejercidas en el manejo de reactivos de laboratorio. Deshacerse de los desechos observando todas las normativas locales, regionales y nacionales. Consultar 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.)

Las soluciones de hematoxilina Gill son PERJUDICIALES. Perjudiciales en caso de ingestión. Irritantes para los ojos, sistema respiratorio y piel. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Llevar ropa protectora adecuada. Órganos a los que afecta: hígado y riñones.

El alcohol reactivo es INFLAMABLE e IRRITANTE. Irritante para los ojos, sistema respiratorio y piel. Mantener el envase bien cerrado. Mantener alejado de las llamas – no fumar. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Llevar ropa protectora adecuada. Órganos a los que afecta: nervios e hígado.

Concentrado de Scott sustituto del agua corriente. Precaución: Sustancia en proceso de prueba.

La solución diferenciadora ACCUMATE™ es CORROSIVA e INFLAMABLE. Provoca quemaduras. Llevar ropa protectora adecuada. Mantener alejada de las llamas – no fumar. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Órganos a los que afecta: ojos y riñones.

Las soluciones alcohólicas de eosina, tinción de Papanicolaou OG 6, soluciones de tinción de Papanicolaou (EA, EA50 y EA65 modificadas) son INFLAMABLES y PERJUDICIALES. Altamente inflamables. Perjudiciales por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Perjudiciales: posible riesgo de efectos irreversibles por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Mantener alejadas de las llamas – no fumar. Usar ropa y guantes protectores adecuados. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible).

Solución acuosa de eosina. Precaución: Sustancia en proceso de prueba.

La solución EA Gill modificada es INFLAMABLE e IRRITANTE. Perjudicial por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Tóxica: peligro de efectos

irreversibles muy graves por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Irritante para los ojos, sistema respiratorio y piel. Mantener alejada de las llamas – no fumar. Evitar el contacto con la piel. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible). Órganos a los que afecta: nervios y ojos.

El xileno es INFLAMABLE y PERJUDICIAL. Posible riesgo de infertilidad. Puede causar daños al feto. Perjudicial por inhalación y por contacto con la piel. Irritante para el sistema respiratorio y la piel. Riesgo de daño grave para los ojos. 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. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible).

El sustituto del xileno es INFLAMABLE e IRRITANTE. 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. Órganos a los que afecta: nervios y riñones.

Declaración de riesgos y seguridad (U.E.)

Las soluciones de hematoxilina Gill son PERJUDICIALES. Perjudiciales en caso de ingestión. Irritantes para los ojos. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Llevar ropa protectora adecuada.

El alcohol reactivo es ALTAMENTE INFLAMABLE e IRRITANTE. Altamente inflamable. Irritante para los ojos, sistema respiratorio y piel. Mantener el envase bien cerrado. Mantener alejado de las llamas – no fumar. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Llevar ropa protectora adecuada.

Concentrado de Scott sustituto del agua corriente. Precaución: Sustancia en proceso de prueba.

La solución diferenciadora ACCUMATE™ es TÓXICA. Inflamable. Provoca quemaduras. Mantener alejada de las llamas – no fumar. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Llevar ropa protectora adecuada. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible).

Las soluciones alcohólicas de eosina, tinción de Papanicolaou OG 6, soluciones de tinción de Papanicolaou (EA, EA50 y EA65 modificadas) son ALTAMENTE INFLAMABLES y PERJUDICIALES. Altamente inflamables. Perjudiciales por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Perjudiciales: posible riesgo de efectos irreversibles por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Mantener alejadas de las llamas – no fumar. Usar ropa y guantes protectores adecuados. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible).

Solución acuosa de eosina. Precaución: Sustancia en proceso de prueba.

La solución EA Gill modificada es ALTAMENTE INFLAMABLE y TÓXICA. Altamente inflamable. Perjudicial por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Tóxica: peligro de efectos irreversibles muy graves por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Mantener alejada de las llamas – no fumar. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible).

El xileno es PERJUDICIAL. Inflamable. Perjudicial por inhalación y por contacto con la piel. Irritante para la piel.

El sustituto del xileno es ALTAMENTE INFLAMABLE e IRRITANTE. Altamente inflamable. 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.

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 muestras de tejido deben considerarse potencialmente infecciosos.

Los textos histológicos estándar proporcionan los detalles necesarios^{2,3}.

MATERIAL ESPECIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO:

SOLUCIÓN DIFERENCIADORA ACCUMATE™, números de catálogo A 3179, A 3304 y A 3429

CONTRATINCIONES

(la elección depende de la muestra y de las preferencias individuales):

SOLUCIÓN DE EOSINA Y, ALCOHÓLICA, número de catálogo HT110-1

SOLUCIÓN DE EOSINA Y, ACUOSA, número de catálogo HT110-2

SOLUCIÓN DE EOSINA Y, ALCOHÓLICA CON FLOXINA, número de catálogo HT110-3

TINCIÓN DE PAPANICOLAOU OG 6, número de catálogo HT40-1

TINCIÓN DE PAPANICOLAOU, EA modificada, número de catálogo HT40-2

TINCIÓN DE PAPANICOLAOU EA 50, número de catálogo HT40-3

TINCIÓN DE PAPANICOLAOU EA 65, número de catálogo HT40-4

SOLUCIÓN GILL EA MODIFICADA, número de catálogo 391-5

ALCOHOL REACTIVO, número de catálogo R 8382

O BIEN

ETANOL, 100 %

NOTA: También es necesaria una dilución (95 %) de alcohol reactivo o etanol.

CONCENTRADO DE SCOTT SUSTITUTO DEL AGUA CORRIENTE, número de catálogo S 5134

NOTAS:

1. Los tiempos indicados en el prospecto son aproximados, y pueden cambiarse según las preferencias personales. Cuando las soluciones de tinción se utilizan mucho, pierden su capacidad de tinción y hay que aumentar el tiempo o utilizar soluciones nuevas*.
2. Algunos suministros de agua corriente son ácidos y, por lo tanto, inadecuados para utilizar en la parte de "azulado" de este procedimiento. Si el agua corriente del grifo es ácida, utilice una solución alcalina diluida.
3. Los núcleos púrpura o rojo-marrón son indicativos de un "azulado" inadecuado.
4. Si la tinción con eosina es excesiva, la tinción nuclear puede quedar oculta. Una tinción con eosina correcta debe mostrar un efecto de tres tonos. Para aumentar la diferenciación de la eosina, debe aumentarse el tiempo en los alcoholes o usar el primer alcohol con un mayor contenido de agua. Los tiempos de los alcoholes pueden ajustarse para obtener el grado correcto de tinción con eosina.
5. En cada proceso se deben incluir portaobjetos de control positivo.
6. 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:

(Tinción de preparaciones citológicas exfoliantes utilizando solución de hematoxilina Gill Nº 1 o Gill Nº 2)

1. Fijar las extensiones citológicas en 95 % de etanol.....15 minutos
2. Aclarar con agua corriente del grifo, a chorro suave.....30 segundos
3. Teñir en solución de hematoxilina Gill Nº 1 o Gill Nº 2.....1,5-3 minutos
4. Aclarar con agua del grifo.
5. Concentrado de Scott sustituto del agua corriente15-60 segundos
6. Aclarar con agua del grifo.
7. Alcohol reactivo, 95 %.....10 inmersiones
8. Contratinción de Papanicolaou OG 6, número de catálogo HT40-11,5 minutos
9. Alcohol reactivo, 95 %.....10 inmersiones
10. Tinción de Papanicolaou EA 50, número de catálogo HT40-3, **o**
Tinción de Papanicolaou EA 65, número de catálogo HT40-4, **o**
Tinción de Papanicolaou EA modificada, número de catálogo HT40-2, **o**
Gill EA modificada, número de catálogo 391-5.....2,5-3 minutos
11. Alcohol reactivo, 95 %, dos cambios.....10 inmersiones cada uno
12. Alcohol reactivo, 100 %, dos cambios1 minuto cada uno
13. Xileno, dos cambios2 minutos cada uno
14. Colocar el cubreobjetos y examinar con el microscopio.

PROCEDIMIENTO 2:

(Tinción histológica y/o citológica utilizando solución de hematoxilina Gill Nº 2 o Gill Nº 3)

1. Desparafinar y llevar hasta agua o fijar y deshidratar los cortes congelados.
2. Teñir en solución de hematoxilina Gill Nº 2 o Gill Nº 3.....1,5-3 minutos
3. Lavar con agua del grifo.
4. Solución diferenciadora ACCUMATE™20-60 segundos
5. Lavar con agua del grifo.
6. Azular en concentrado de Scott sustituto del agua corriente.....5-60 segundos
7. Lavar con agua del grifo.
8. Contratinción:
Para histología:
Solución de eosina Y, alcohólica, número de catálogo HT110-1, **o**
Solución de eosina Y acidificada, acuosa, número de catálogo HT110-2, **o**
Solución de eosina Y, alcohólica con floxina, número de catálogo HT110-330-60 segundos
Para citología:
Tinción de Papanicolaou OG 6, número de catálogo HT40-3, **y**
Tinción de Papanicolaou EA 50, número de catálogo HT40-3, **o**
Tinción de Papanicolaou EA 65, número de catálogo HT40-4, **o**
Tinción de Papanicolaou EA modificada, número de catálogo HT40-2, **o**
Solución Gill EA modificada, número de catálogo 391-5.....1-3 minutos
9. Deshidratar, aclarar y montar.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

RESULTADOS ESPERADOS:

La cromatina tiene un color de azul a azul-negro y los nucléolos deben ser evidentes. La tinción citoplásmica con soluciones de hematoxilina Gill Nº 1 y 2 debe ser pálida o nula, por lo que puede que no sea necesaria la diferenciación con ácido. La solución de hematoxilina Gill Nº 3 debe considerarse como tinción regresiva.

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

REFERENCIAS

1. Natural Dyes. IN HJ Conn's Biological Stains, 9th ed., RD Lillie, Editor, Williams and Wilkens Co., Baltimore, MD, 1977, pp 468, 472
2. Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., DC Sheehan, BB Hrapchak, Editors, CV Mosby Co., St. Louis, MO, 1980
3. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology, 3rd ed., LG Luna, Editor, McGraw Hill, New York, 1968
4. Theory and Practice of Histological Techniques, Edited by Bancroft JD and Gamble, M, Churchill Livingstone, New York, 2002, p129

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 GHS
Revisión anterior: 2003-04
Revisión: 2003-09



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