

APLICACIÓN

Las soluciones de hematoxilina de Harris son tinciones nucleares para uso en histología y citología, y 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 Bohmer¹ 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.

Las soluciones de hematoxilina son tinciones regresivas para uso en histología y citología rutinarias. El complejo aluminio-hemateína con carga positiva se combina con fosfatasa con carga negativa de ADN nuclear, formando el color azul-púrpura característico de las tinciones de hematoxilina.

La solución de hematoxilina de Harris también puede utilizarse junto con los procedimientos de tinción de Papanicolaou para uso en citología. Véase el procedimiento número HT40 de Sigma-Aldrich.

REACTIVO

SOLUCIÓN DE HEMATOXILINA DE HARRIS, número de catálogo HHS
Hematoxilina certificada, 7,0 g/l, yodato sódico, sulfato de aluminio y amonio 12 H₂O, conservante y estabilizantes.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD:

Almacenar el reactivo a temperatura ambiente (18–26 °C), protegido de la luz. El reactivo es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

DETERIORO:

Desechar si el tiempo de tinción es excesivo o si el color de la solución cambia de morado a azul o marrón.

PREPARACIÓN:

Filtrar la solución de hematoxilina de Harris antes de cada uso.

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.)

Evitar el contacto y la inhalación de la solución de hematoxilina de Harris. Órganos a los que afecta: corazón y nervios.

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.

Las soluciones de eosina alcohólica son **INFLAMABLES** y **PERJUDICIALES**. 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. Irritantes para los ojos, sistema respiratorio y piel. 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.

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).

La solución de ácido clorhídrico es **TÓXICA**. Tóxica por inhalación. Provoca quemaduras. Irritante para el sistema respiratorio. 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).

Declaración de riesgos y seguridad (U.E.)

Solución de hematoxilina de Harris. No inhalar los vapores. Evitar el contacto con la piel y los ojos.

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 de eosina alcohólica 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.

El xileno es **PERJUDICIAL**. Inflamable. Perjudicial por inhalación y por contacto con la piel. Irritante para la piel. Evitar el contacto con los ojos.

La solución de ácido clorhídrico es **CORROSIVA**. Provoca quemaduras. Irritante para el sistema respiratorio. 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).

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 para la recogida y almacenamiento de las muestras^{2,3}.

MATERIAL ESPECIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO:

Solución diferenciadora **ACCUMATE™**, números de catálogo A3179 o A 3429

Contratinciones con solución de eosina Y:

alcohólica, número de catálogo HT110-1

O BIEN

acuosa, número de catálogo HT110-2

O BIEN

alcohólica con floxina, número de catálogo HT110-3

Alcohol reactivo O etanol, 100 %

Concentrado de Scott sustituto del agua corriente

Xileno

Ácido clorhídrico, concentrado

Microscopio, portaobjetos, cubreobjetos y platos de tinción

NOTAS:

1. Los tiempos de tinción pueden variar según las preferencias de color individuales.
2. Pueden utilizarse otras soluciones alcalinas diluidas, en lugar del concentrado de Scott sustituto del agua corriente.
3. Puede utilizarse una solución de ácido-alcohol al 0,25 %, en lugar de la solución diferenciadora **ACCUMATE™**. Preparar añadiendo 0,25 ml de ácido clorhídrico concentrado a 100 ml de alcohol al 70 %.
4. 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 nuevas⁴.
5. 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.
6. Los núcleos púrpura o rojo-marrón son indicativos de un "azulado" inadecuado.
7. 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.
8. En cada proceso se deben incluir portaobjetos de control positivo.
9. 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. Preparar la solución de alcohol al 95 % añadiendo 5 ml de agua desionizada a 95 ml de alcohol reactivo, número R 8382, o etanol (100 %).
2. Preparar la solución de concentrado de Scott sustituto del agua corriente, tal como se indica en la etiqueta del frasco.
3. Desparafinar y llevar hasta agua o fijar y deshidratar los cortes congelados.
4. Teñir en solución de hematoxilina de Harris.de 2,0 a 2,5 min.
5. Aclarar el portaobjetos con agua corriente del grifo.
6. Solución diferenciadora **ACCUMATE™**1–2 inmersiones.
7. Aclarar el portaobjetos con agua corriente del grifo.
8. Azular en concentrado de Scott sustituto del agua corriente.....5–60 seg.
9. Alcohol reactivo, 95 %30 seg.
10. Contratinción de solución de eosina Y:

alcohólica, número de catálogo HT110-1

O BIEN

alcohólica con floxina, número de catálogo HT110-330–60 seg.

11. Deshidratar, aclarar y montar.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

RESULTADOS ESPERADOS:

La cromatina nuclear debe ser azul. Los nucléolos deben ser evidentes y claramente definidos. El citoplasma mostrará varios tonos de rosa a rosa-naranja según la contratinción utilizada, y los hematíes serán rojos.

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

REFERENCIAS

1. Natural Dyes, IN J 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 HHS

Revisión anterior: 2003-03

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