

APLICACIÓN

Las tinciones tricrómicas (Gomori) de Sigma-Aldrich se utilizan para el estudio del tejido conectivo, músculo y fibras colágenas. Los reactivos de tinción tricrómica son para uso diagnóstico *in vitro*.

Las tinciones "tricrómicas" se utilizan principalmente para diferenciar las fibras colágenas del tejido muscular. Generalmente, son tintes nucleares, colágenos y citoplásmicos en mordientes tales como ácido fosfotúngstico o fosfomolibdico. Históricamente, el primer sistema tricrómico se atribuye a Mallory^{2,3}. Otras modificaciones fueron introducidas por Masson, Foot y Gomori^{2,4}. El procedimiento descrito en este prospecto se basa en el trabajo de Gomori; se trata de un sistema de un solo paso que combina la tinción de los tejidos citoplásmico y conectivo con una solución de ácido fosfotúngstico/ácido acético⁴. Las secciones de tejidos se tratan con solución de Bouin para intensificar la coloración final. A continuación, los núcleos se tiñen con hematoxilina férrica de Weigert, seguida de tinción con cromotropo R2 (se tiñen las fibras citoplásmicas y musculares) y Fast Green FCF o azul anilina (se tiñen las fibras de colágeno). Su lavado en ácido acético después de la tinción hace que los tonos sean más delicados y transparentes⁵. Se incluye una técnica de tinción tricrómica de Gomori para la tinción rápida en hornos microondas⁶⁻⁸.

REACTIVOS

SOLUCIÓN DE TINCIÓN TRICRÓMICA LG, número de catálogo HT10-3-16
Cromotropo 2R, 0,6 % (p/v), Fast Green FCF (certificado), 0,1 % (p/v), ácido fosfotúngstico, 0,8 % (p/v) y ácido acético, 1,0 % (v/v). El reactivo tiñe el colágeno en verde.

SOLUCIÓN DE TINCIÓN TRICRÓMICA AB, número de catálogo HT10-5-16
Cromotropo 2R, 0,6 % (p/v), azul anilina, certificado, 0,3 % (p/v), ácido fosfotúngstico, 0,8 % (p/v) y ácido acético, 1,0 % (v/v). El reactivo tiñe el colágeno en azul.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD:

Almacenar las soluciones de tinción tricrómica, solución de Bouin, hematoxilina férrica de Weigert, TISSUE-TROL tricrómico, solución de ácido acético y concentrado de Scott sustituto del agua corriente, y la solución de trabajo a temperatura ambiente (18–26 °C).

Las soluciones de tinción tricrómica, solución de Bouin, hematoxilina férrica de Weigert (Partes A y B), TISSUE-TROL tricrómico, solución de ácido acético y concentrado de Scott sustituto del agua corriente, y la solución de trabajo son estables hasta la fecha de caducidad.

Debe prepararse una nueva solución de hematoxilina férrica de Weigert para cada uso.

PREPARACIÓN:

Las soluciones de tinción tricrómica LG y AB, y la solución de Bouin están listas para su uso.

La solución de hematoxilina férrica de Weigert se prepara mezclando las soluciones A y B a partes iguales.

El sustituto del agua corriente Scott se prepara mezclando 1 parte de concentrado de Scott sustituto del agua corriente con 9 partes de agua desionizada.

Preparar ácido acético al 0,5 % diluyendo 4,4 ml de ácido acético 1N con 45,6 ml de agua.

Preparar ácido acético al 1 % diluyendo 8,8 ml de ácido acético 1N con 41,2 ml de agua.

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.

Los portaobjetos de control TISSUE-TROL tricrómico son de tejido humano embebido en parafina con tejido de colágeno y muscular, y deben ser considerados como potencialmente infecciosos.

Declaración de riesgos y seguridad (EE.UU.)

Solución de tinción tricrómica LG – Precaución: Sustancia en proceso de prueba.

Solución de tinción tricrómica AB – Precaución: Sustancia en proceso de prueba.

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.

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 Bouin es PERJUDICIAL. Explosiva cuando está seca. Perjudicial por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Evidencia escasa de efectos carcinógenos. Puede causar sensibilización por contacto con la piel. Irritante para los ojos, sistema respiratorio y piel. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible). 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. Utilizar sólo en zonas bien ventiladas. Guardar en un lugar cerrado y fuera del alcance de los niños.

La solución de hematoxilina férrica de Weigert, Parte A, es INFLAMABLE e IRRITANTE. Irritante para los ojos, sistema respiratorio y piel. 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. Órganos a los que afecta: nervios e hígado.

La solución de hematoxilina férrica de Weigert, Parte B, es TÓXICA. Tóxica por inhalación. Provoca quemaduras. 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).

Las soluciones de hematoxilina de Gill son PERJUDICIALES. Perjudiciales en caso de ingestión. Irritantes para el sistema respiratorio y la piel. Riesgo de daño grave para los ojos. 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.

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

La solución de ácido acético 1N es CORROSIVA. Provoca quemaduras graves. 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). Órganos a los que afecta: riñones y dientes.

Declaración de riesgos y seguridad (U.E.)

Solución de tinción tricrómica LG – Precaución: Sustancia en proceso de prueba.

Solución de tinción tricrómica AB – Precaución: Sustancia en proceso de prueba.

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.

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 Bouin es PERJUDICIAL. Explosiva cuando está seca. Perjudicial por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Evidencia escasa de efectos carcinógenos. Puede causar sensibilización por contacto con la piel. Irritante para los ojos, sistema respiratorio y piel. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Este material y su envase deben desecharse de forma segura. Usar ropa y guantes protectores adecuados.

La solución de hematoxilina férrica de Weigert, Parte A, 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. Llevar ropa protectora adecuada.

Las soluciones de hematoxilina de 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.

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

Soluciones de ácido acético 1N. Evitar el contacto con la piel y los ojos. En caso de contacto con la piel, desprenderse inmediatamente de todas las ropas contaminadas, lavarse con agua abundante y buscar asistencia médica. No inhalar los vapores.

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.

Puede utilizarse cualquier sección cortada con un grosor de 5 micras o menos, bien fijada con parafina.

MATERIAL ESPECIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO:

Los portaobjetos de control positivo, tal como TISSUE-TROL tricrómico de Sigma, número de catálogo T 8800, deben utilizarse en cada proceso.

Solución de ácido acético 1N

Solución de Bouin, número de catálogo HT10-1-32 o HT10-1-128, ácido pícrico acuoso saturado, 71 %, formaldehído, 24 %, y ácido acético, 5 %

SÓLO PARA PROCEDIMIENTOS ESTÁNDAR:

Solución de hematoxilina férrica de Weigert, número de catálogo HT10-79

Solución de hematoxilina férrica de Weigert, Parte A, número de catálogo HT10-7, hematoxilina, 1 %, certificada en etanol

Solución de hematoxilina férrica de Weigert, Parte B, número de catálogo HT10-9, cloruro férrico, 1,2 % (p/v) y ácido clorhídrico, 1 % (v/v)

SÓLO PARA PROCEDIMIENTOS CON MICROONDAS:

SOLUCIÓN DE HEMATOXILINA DE GILL N° 3, número de catálogo GHS-3

Concentrado de Scott sustituto del agua corriente, número de catálogo S 5134

Horno microondas ACCUMATE™ H2100, números de catálogo A 9084 (110 v) o A 9209 (220 v)

NOTAS:

Si se utiliza el horno microondas H2100 de Sigma-Aldrich, véanse las instrucciones en el Manual del propietario.

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 ESTÁNDAR:

1. Preparar la solución de hematoxilina férrica de Weigert según las instrucciones indicadas en la etiqueta.
2. Desparafinar e hidratar los portaobjetos con agua desionizada.
3. Colocar los portaobjetos en solución de Bouin precalentada a 56 °C durante **15 minutos** o a **temperatura ambiente durante la noche**.
4. Enfriar los portaobjetos en agua del grifo (**18–26 °C**), dentro de un vaso de Coplin.
5. Lavar los portaobjetos con agua corriente del grifo para eliminar el amarillo de los cortes.
6. Teñir en solución de hematoxilina férrica de Weigert durante **5 minutos**.
7. Lavar durante **5 minutos** con agua corriente del grifo.
8. Teñir con solución de tinción tricrómica (LG o AB) durante **5 minutos**.
9. Colocar en ácido acético al 0,5 % durante **1 minuto**.
10. Aclarar los portaobjetos, deshidratar en alcohol, aclarar en xileno y montar.

PROCEDIMIENTO CON MICROONDAS ACCUMATE™ H2100

1. Desparafinar e hidratar los portaobjetos con agua desionizada.
2. Colocar los portaobjetos en **40 ml** de solución de Bouin, dentro de un vaso de Coplin de plástico. Tapar el vaso sin apretar la tapa, o utilizar tapas con agujeros.
3. Poner en el horno microondas a **600 vatios** durante **25 segundos**. Agitar la solución con una pipeta Beral o una varilla aplicadora, y dejarla incubar durante **5 minutos** debajo de una campana extractora o en una zona con buena ventilación.
4. Aclarar con agua corriente del grifo hasta que desaparezca el color amarillo.
5. Colocar los portaobjetos en **40 ml** de solución de hematoxilina de Gill N° 3, dentro de un vaso de Coplin de plástico.
6. Poner en el horno microondas a **800 vatios** durante **5 segundos**.
7. Aclarar bien con agua corriente del grifo de **30 segundos a 1 minuto**.
8. Azular en concentrado de Scott sustituto del agua corriente a **temperatura ambiente**.
9. Aclarar bien con agua corriente del grifo.
10. Colocar los portaobjetos en **40 ml** de solución de tinción tricrómica (LG o AB), dentro de un vaso de Coplin de plástico.
11. Poner en el horno microondas a **800 vatios** durante **15 segundos**. Agitar cuidadosamente la solución con una pipeta Beral o una varilla aplicadora. Dejar incubar durante **1 minuto**.
12. Aclarar rápidamente con agua del grifo.
13. Sumergir los portaobjetos en ácido acético al 1 % de **30 segundos a 1 minuto**, a **temperatura ambiente**.
14. Aclarar los portaobjetos, deshidratar en alcohol, aclarar en xileno y montar.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Núcleos	– De azul a negro
Colágeno	– Verde (LG) o azul (AB)
Citoplasma, muscular	– Rojo

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

REFERENCIAS

1. HJ Conn's Biological Stains, Edited by RD Lillie, 9th ed, Williams and Wilkins, Baltimore (MD), 1977
2. Theory and Practice of Histotechnology, Edited by DC Sheehan and BB Hrapchak, 2nd ed, Mosby, St. Louis, (MO), 1980
3. Lillie RD: Further experiments with the Masson trichrome modification of Mallory's connective tissue stain. Stain Technol 15:17, 1940
4. Gomori G: A rapid one-step trichrome stain. Am J Clin Pathol 20:661, 1950
5. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
6. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
7. Valle S: Special stains in the microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
8. Histotechnology: A Self Instructional Text. Carson, ASCP Press, Chicago, 1990
9. Kok and Boon: Microwave Cookbook for Microscopists. Couloomb Press, Leyden. Leyden 1992
10. Davis Mary: The Joy of Microwaving, NSH 1995 Symposium, Buffalo, NY

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 HT10
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 realizar 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