

APLICACIÓN

La solución de hematoxilina de Mayer se utiliza normalmente tras la tinción de inmunohistoquímica o citoquímica, como contratiñición nuclear. También puede utilizarse para tinción estándar con hematoxilina y eosina (H&E), pero generalmente se utiliza más cuando la diferenciación de ácido-alcohol o la exposición a alcohol pueden destruir el componente citoplásmico teñido³. La solución de hematoxilina de Mayer está formulada sin alcohol, y por lo tanto no disuelve el AEC (3-amino-9-etilcarbazonol), fosfatasa alcalina/cromógeno Fast Red u otros productos solubles teñidos. Las soluciones de hematoxilina de Mayer 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. Mayer introdujo su formulación en 1903³. 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 soluciones de hematoxilina 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 sin teñir las estructuras citoplásmicas. La intensidad deseada es una cuestión de tiempo. Si los tiempos de tinción son excesivos, una tinción progresiva podría actuar de forma similar a una solución de tinción regresiva. La tinción progresiva generalmente requiere más tiempo que la regresiva. Las tinciones regresivas (p.ej., hematoxilina de Harris) tiñen todos los componentes de tejidos (nucleares y citoplásmicos) que tienen la capacidad de ser teñidos. Para obtener la respuesta de tinción correcta, debe retirarse el exceso de tinte de los cortes de tejido. Tras una diferenciación suficiente, un corte correctamente desteñido demostrará la tinción nuclear, pero no teñirá las estructuras citoplásmicas.

El paso final de la tinción con hematoxilina es el "azulado" del corte de tejido. En un principio, los cortes de tejido se tiñen de color púrpura o púrpura rojizo. Tras la exposición a soluciones alcalinas (agua del grifo templada [si es ligeramente alcalina], agua diluida con amoníaco, concentrado Scott sustituto del agua corriente, o carbonato de litio), los cortes de tejido adquieren el color azul característico de un portaobjetos teñido con hematoxilina.

REACTIVO

SOLUCIÓN DE HEMATOXILINA DE MAYER, número de catálogo MHS
Hematoxilina certificada, 1,0 g/l, yodato sódico (0,2 g/l), sulfato de aluminio y amonio 12 H₂O (50 g/l), hidrato de cloral (50 g/l) y ácido cítrico (1 g/l).

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. No volver a colocar la solución utilizada en la botella de origen.

DETERIORO:

Desechar si los tiempos de tinción son excesivos o si la solución se vuelve marrón.

PREPARACIÓN:

Filtrar la solución de hematoxilina de Mayer antes de cada uso. La solución ya estará lista para su 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.)

La solución de hematoxilina de Mayer es TÓXICA. Tóxica 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. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible). Órganos a los que afecta: nervios e hígado.

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.

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

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).

Declaración de riesgos y seguridad (U.E.)

La solución de hematoxilina de Mayer es PERJUDICIAL. Perjudicial en caso de ingestión.

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.

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.

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^{4,5}.

MATERIAL ESPECIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO:

Contratinciones con solución de eosina Y:

alcohólica, número de catálogo HT110-1, acuosa, número de catálogo HT110-2, o alcohólica con floxina, número de catálogo HT110-3

Alcohol reactivo O etanol, 100 %

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

Xileno o sustituto del xileno

Microscopio, portaobjetos, cubreobjetos y platos de tinción

NOTAS:

- 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 nuevas⁶.
- Pueden utilizarse soluciones alcalinas diluidas, en lugar de agua corriente del grifo. En este caso disminuirá el tiempo necesario para el procedimiento de tinción. Si se utiliza una solución alcalina diluida, hay que asegurarse de lavar los portaobjetos de 2 a 3 minutos más con agua corriente del grifo antes de proceder a la tinción con eosina.
- 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.
- Los núcleos púrpura o rojo-marrón son indicativos de un "azulado" inadecuado.
- 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.
- Filtrar la solución de tinción diariamente. Hacer rotación de los alcoholes y del xileno/sustituto del xileno diariamente.
- No se recomienda añadir más cantidad de solución de hematoxilina de Mayer o de eosina para rellenar la que se ha utilizado.
- Evitar un aporte excesivo de agua a la hematoxilina de Mayer.
- En cada proceso se deben incluir portaobjetos de control positivo.
- 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 CON HEMATOXILINA Y EOSINA

- 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 %).
- Desparafinar y llevar hasta agua o fijar e hidratar los cortes congelados.
- Teñir en solución de hematoxilina de Mayer durante15 minutos
- Aclarar con agua corriente del grifo, templada, durante.....15 minutos
- Poner en agua destilada durante.....30 segundos
- Si se va a utilizar eosina alcohólica:
Poner en alcohol reactivo, 95 %, durante30 segundos
- Contrateñir con solución de eosina Y:
alcohólica, número de catálogo HT110-1,
acuosa, número de catálogo HT110-2
o alcohólica con floxina, número de catálogo HT110-3, durante30–60 segundos

8. Deshidratar y aclarar realizando dos cambios de 95 % alcohol reactivo, alcohol reactivo absoluto y xileno,durante 2 minutos cada uno
9. Montar con medio de montaje resinoso.

PROCEDIMIENTO 2:

CONTRATINCIÓN NUCLEAR PARA TINCIONES ESPECIALES

1. Completar el procedimiento de tinción individual.
2. Aclarar con agua desionizada.
3. Teñir en solución de hematoxilina de Mayer de 1 a 5 minutos.
4. Aclarar con agua corriente del grifo o con solución alcalina diluida hasta que los núcleos sean azules.
5. Aclarar con agua desionizada.
6. Si una parte de la tinción es soluble en alcohol, montar en medio acuoso. Si la tinción no es soluble en alcohol, deshidratar en alcohol, aclarar con xileno o sustituto de xileno, y montar en medio resinoso.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

RESULTADOS ESPERADOS

La cromatina nuclear debe ser azul. Los nucléolos deben ser visibles. 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. Conn's Biological Stains, 9th ed., RD Lillie, Editor, Williams and Wilkens Co., Baltimore (MD), pp 468, 472, 1977
2. Mayer P, (1903) Notiz über Hämatein und Hämalan. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie und für mikroskopische Technik, 20, 409
3. Theory and Practice of Histological Techniques, 2nd ed., Bancroft JD and Stevens A, Editors, Churchill Livingstone, New York (NY), page 111, 1982
4. Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., Sheehan DC, Hrapchak BB, Editors, CV Mosby Co, St Louis (MO) 1980
5. Laboratory Methods in Histotechnology of the Armed Forces Institute of Pathology, 4th ed., Prophet EB, Mills B, Arrington JB and Sobin LH, Editors, American Registry of Pathology, Washington DC 1992
6. 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 MHS
Revisión anterior: 2003-05
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