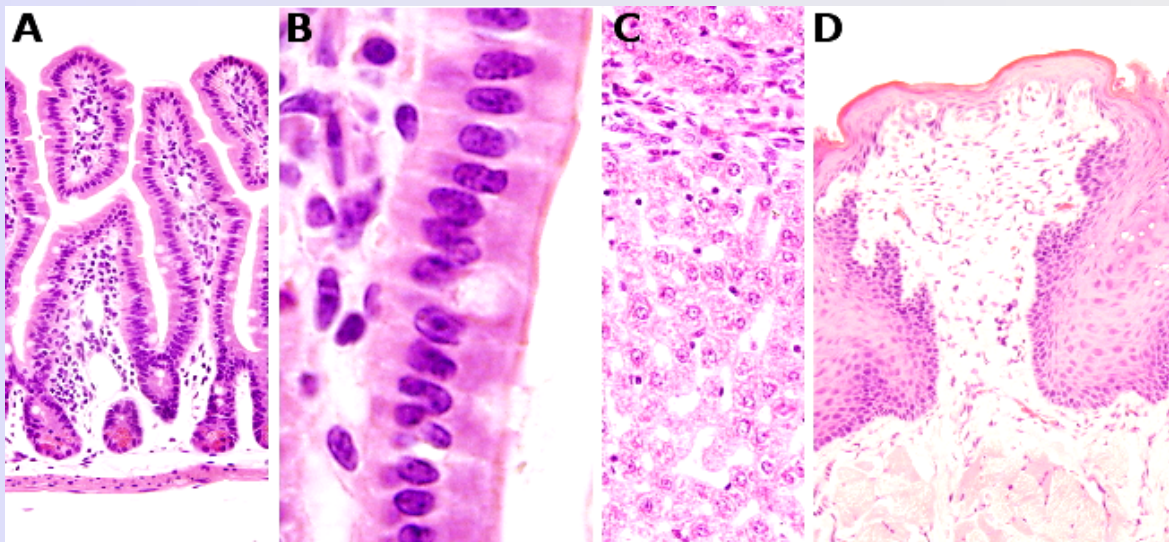


ATLAS de HISTOLOGÍA VEGETAL y ANIMAL

Técnicas histológicas

RECETAS de REACTIVOS



Manuel Megías, Pilar Molist, Manuel A. Pombal
Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud.
Facultad de Biología. Universidad de Vigo.
(Edición: Abril 2016)

Este documento es una edición en pdf del sitio
<http://mmegias.webs2.uvigo.es/mmegias/inicio.html>

y

ha sido creado con el programa Scribus

(<http://www.scribus.net/>)

Todo el contenido de este documento se distribuye bajo la licencia Creative Commons del tipo BY-NC-SA (Esta licencia permite modificar, ampliar, distribuir y usar sin restricción siempre que no se use para fines comerciales, que el resultado tenga la misma licencia y que se nombre a los autores).

ÍNDICE

Preparación de alcoholos	4
Fijador Bouin	5
Fijador Carnoy	7
Fijador FFA	8
Fijador paraformaldehído tamponado	9
Fijador PLP	10
Colorante azul alcian	11
Colorante fucsina escarlata	12
Colorante hematoxilina de Carazzi	13
Colorante hematoxilina de Erlich	14
Colorante hematoxilina de Gill	15
Colorante hematoxilina de Harris	16
Colorante hematoxilina de Weigert	17
Colorante picrofucsina de van Gieson	17
Reactivo de Schiff	18
Colorante safranina	20
Colorante verde luz / verde rápido	21
Colorante violeta de cresilo	23

Preparación de alcoholes

Preparación de etanol de diferente gradación a partir de etanol de 96º, según la tabla de diluciones Gay Lussac (Langeron, 1949).

Procedimiento

A 100 ml de etanol de 96º han de añadirse las siguientes cantidades de agua destilada para preparar las diferentes graduaciones de etanol:

30º	227.70 ml
40º	147.22 ml
50º	98.15 ml
60º	64.92 ml
70º	40.85 ml
80º	22.45 ml
90º	7.73 ml

Productos

Etanol 96º
 Agua destilada

Material

Probeta

Fijador Bouin

El Bouin es una mezcla fijadora descrita inicialmente por Pol Andre Bouin a finales del siglo XIX. Es muy utilizada en histología en tejidos incluidos en parafina y para la realización de tinciones comunes, por ejemplo en histopatología. Es muy útil para tejidos blandos y embriones, y preserva bien el núcleo y el glucógeno. También actúa como mordiente que ayuda a la tinción con determinados colorantes. Su capacidad fijadora se basa en la acción del ácido pícrico, que provoca precipitación de moléculas, y del formaldehído, que forma entrecruzamientos entre proteínas del tejido.

Procedimiento

15 partes Solución saturada de ácido pícrico

5 partes Formol

1 parte Ácido acético

Soluciones

Solución saturada de ácido pícrico: añadir ácido pícrico sólido a un litro de H₂O destilada. Dejar disolver durante un día o dos de manera que el agua se sature sin que se llegue a disolver todo el ácido pícrico añadido. Una vez saturada el H₂O con el ácido pícrico se coge el volumen necesario para preparar la solución fijadora, con cuidado de no remover el fondo donde se encuentra el ácido pícrico sólido no disuelto.

Se puede añadir un volumen de H₂O destilada igual al sacado tras cada uso, siempre que quede ácido pícrico sólido en el fondo del recipiente. Si éste desaparece se añade más ácido pícrico sólido.

La solución saturada de ácido pícrico se puede mantener durante meses.

Formol: formaldehído al 37-40 % en H₂O destilada.

Consejos

La solución de Bouin se puede mantener almacenada mucho tiempo, siempre que esté herméticamente cerrado el recipiente que la contiene. Hay que tener cuidado con el tiempo de fijación, que no debe exceder de 48 h en el caso de fijaciones por inmersión. Tras la fijación las muestras de tejido se pueden conservar en alcohol de 70°. No está recomendado para el riñón ni para el estudio de mitocondrias.

Antes de la inclusión en parafina es conveniente eliminar el ácido pícrico de la muestra mediante lavados en etanol de 70° porque puede impedir una buena inclusión o que las tinciones no sean adecuadas.

Ver la hoja de seguridad del ácido pícrico puesto que puede ser explosivo bajo ciertas circunstancias.

Productos

Formaldehído

Ácido pícrico

Ácido acético

Agua destilada

Material

Probeta

Bote con cierre hermético

Vaso de precipitado

Fijador Carnoy

La solución de Carnoy es un fijador ampliamente usado en histología tanto de animales como de plantas. Es un fijador ácido especialmente indicado para preservar ácidos nucleicos (núcleos, cromatina, grumos de Nissl) y glucógeno. También es útil para la preservación de las proteínas fibrosas. Es de acción muy rápida gracias a al cloroformo y es por ello recomendado para acortar tiempos de fijación (1 hora aproximadamente) y, además, la propia fijación deshidrata la muestra. Así, tras la fijación y unos cortos baños en etanol absoluto se puede proceder a la inclusión.

Como todos los fijadores alcohólicos puede producir retracciones citoplasmáticas y lisis de algunos orgánulos como las mitocondrias, aunque la acción del acético y el cloroformo contrarrestan en cierta medida estas retracciones. También lisa los eritrocitos y disuelve los lípidos. La capacidad para disolver las grasas permite una penetración rápida del fijador. Tiempos largos de fijación producen endurecimiento del tejido.

Procedimiento

60 ml Etanol

30 ml Cloroformo

10 ml Ácido acético

Consejos

Es conveniente preparar la solución poco tiempo antes de usar.

Productos

Etanol

Cloroformo

Ácido acético

Material

Probeta

Bote con cierre hermético

Fijador FAA (formaldehído, alcohol, acético)

Los fijadores son moléculas o mezclas de moléculas en solución que se usan para preservar las características tisulares lo más parecido posible a su estado vivo. Permiten que las muestras de tejidos sean conservadas o procesadas en las diversas técnicas histológicas sin deteriorarse. Existen multitud de fijadores, cada uno con características propias, y se eligen en función del tratamiento posterior o de lo que queramos poner de manifiesto.

La solución fijadora FAA (formaldehído, alcohol, acético) se emplea normalmente en la fijación de tejidos vegetales. Aunque no preserva muy bien el citoplasma es un buen fijador para conservar las estructuras vegetales.

Procedimiento

50 cc Etanol

5 cc Ácido acético glacial

10 cc Formol

35 cc Agua destilada

Soluciones

Formol: formaldehído al 37-40 % en H₂O destilada.

Consejos

Las muestras pequeñas como hojas finas han de fijarse durante 12h, mientras que hojas gruesas o troncos pequeños durante 24 h.

Es conveniente fijar los tejidos vegetales en vacío. De esta manera se elimina el aire del tejido a la vez que se favorece que penetre el fijador en todas las células.

Productos

Etanol

Formaldehído

Ácido acético

Agua destilada

Material

Probeta

Bote con cierre hermético

Fijador paraformaldehído tamponado

El formaldehído es el fijador por excelencia en la mayoría de las técnicas histológicas. Se emplea como formol (formaldehído al 10%) en fijadores como el BOUIN, el FFA o PLP, o sólo como formaldehído al 4 % tamponado. Sin embargo, es recomendable el uso de formaldehído preparado fresco para evitar su oxidación. Por ello, actualmente es frecuente usar fijadores con formaldehído al 4 % tamponado, pero preparado a partir paraformaldehído. El paraformaldehído es un polímero de formaldehído que se obtiene sólido. Para obtener la solución fijadora de trabajo es necesario disolver el paraformaldehído.

Procedimiento

- 4 g Paraformaldehído
- 25 ml Tampón fosfato 0.4 M pH 7.4
- Unas gotas Hidróxido sódico 10 N
- Hasta 75 ml Agua destilada

1. Calentar 60-70 ml de agua a 60° en un matraz con un agitador magnético.
2. Añadir 4 g de paraformaldehído.
3. Añadir dos o tres gotas de hidróxido sódico 10 N
4. Esperar a que la solución se vuelva transparente.
5. Filtrar.
6. Añadir 25 ml de tampón fosfato 0.4M pH 7.4
7. Enrasar con agua destilada hasta 100 ml.
8. Enfriar a 4-10° antes de usar.

El resultado es 100 ml de formadehído al 4% en tampón fosfato 0.1M pH 7.4

Productos	Material
Paraformaldehído	Probeta
Cloroformo	Embudo
Hidróxido sódico 10 N	Filtro papel
Tampón fosfato 0.4 M pH 7.4	Agitador magnético
Agua destilada	Agitador con plancha calefactora

Fijador PLP (periyodato, lisina, formaldehído)

Los fijadores son moléculas o mezclas de moléculas en solución que se usan para preservar las características tisulares lo más parecido posible a su estado vivo. Permiten que las muestras de tejidos sean conservadas o procesadas en las diversas técnicas histológicas sin deteriorarse. Existen multitud de fijadores, cada uno con características propias, y se eligen en función del tratamiento posterior o de lo que queramos poner de manifiesto.

La solución fijadora PLP (periyodato, lisina, formaldehído) se emplea cuando se quiere una alta preservación de antígenos puesto que su principal capacidad de fijación se centra en los carbohidratos. Contiene periyodato sódico que oxida a los azúcares para formar aldehídos y la lisina se forma puentes entre ellos, produciendo la fijación. El paraformaldehído se usa en bajas concentraciones para estabilizar el tejido. Es un fijador que, además de preservar la antigenicidad, mantiene la estructura de las membranas en unas condiciones tan buenas que se puede usar como fijador para muestras destinadas a microscopía electrónica.

Procedimiento

Preparación de solución A: a una solución de lisina-HCl 0.2 M se le añade fosfato disódico dibásico 0.1 M hasta que el pH sea 7.4. La solución se diluye en tampón fosfato sódico 0.1 M hasta que la concentración de lisina-HCl alcance 0.1 M.

Preparación de solución B: paraformaldehído al 8 % en H₂O destilada.

Preparación de solución fijadora: mezclar 3 partes de la solución A con 1 de la solución B y añadir metaperiyodato sódico sólido hasta alcanzar una concentración final del 0.01M

Soluciones

Lisina-HCl: solución 0.2 M en H₂O destilada.

Fosfato disódico dibásico: solución 0.1 M en H₂O destilada.

Tampón de fosfato sódico: solución 0.1 M en H₂O destilada, pH 7.4.

Paraformaldehído: solución al 8 % en H₂O destilada.

Consejos

Es importante añadir los productos y soluciones en el orden indicado.

Productos	Material
Lisina-HCl	Probeta
Fosfato disódico dibásico (Na ₂ HPO ₄)	Balanza
Tampón fosfato sódico	Medidor de pH
Paraformaldehído	Agitador magnético / placa térmica
Metaperiyodato sódico (NaIO ₄)	Vasos de precipitado
Agua destilada	Botellas con cierre hermético

Colorante azul alción

El azul alción (azul alción 8GS C.I. 74240) es un colorante de carácter básico compuesto por una serie de isómeros de tetrametil tioisouronio. Se usa sobre todo para la detección de carbohidratos en procesos histoquímicos en tejidos animales, y para la tinción de paredes celulares primarias en las plantas. El color azul es debido al cobre que posee la molécula.

Procedimiento (Safranina / azul alción)

1 g Azul alción (C.I. 74240)

3 ml Ácido acético glacial

97 ml Agua destilada

Consejos

Hay que agitar bien la solución y se puede mantener útil durante años. Ya que este colorante actúa óptimamente a pH próximo a 2.5, se puede ajustar el pH mediante la adición de ácido acético.

Productos

Azul alción (C.I. 74240)

Ácido acético glacial

Agua destilada

Material

Probeta

Balanza

Agitador magnético

Vasos de precipitado

Botellas con cierre hermético

Colorante fucsia escarlata

La fucsina escarlata o fucsina ácida - escarlata de Biebrich es una mezcla basada en la fucsina, colorante de color magenta que se usa normalmente en tinciones tricrómicas como Masson.

Procedimiento

90 ml al 0.1 % Escarlata de Biebrich (C.I. 26905)

9 ml al 1 % Fucsina ácida

1 ml Ácido acético glacial

Productos

Agua destilada

Escarlata de Biebrich (C.I. 26905)

Fucsina

Ácido acético

Material

Probeta

Balanza

Agitador magnético / placa térmica

Vasos de precipitado

Botellas con cierre hermético

Colorante hematoxilina de Carazzi

La hematoxilina de Carazzi es una buena tinción nuclear que proporciona poca tinción de fondo. Se puede emplear en tinciones generales junto con la eosina. Es un protocolo que se suele utilizar para una tinción progresiva.

Procedimiento

- 800 ml Agua destilada
- 200 ml Glicerol
- 1 g Hematoxilina cristalizada (C.I. 75290)
- 0.2 g Yodato de sodio
- 50 g Alumbre de potasio

Preparación

Combinar la hematoxilina con el glicerol. Disolver el yodato de sodio en un poco de agua. Preparar el alumbre en el resto. Mezclar las soluciones de hematoxilina y de alumbre y entonces añadir poco a poco el yodato de sodio. Filtrar

La solución se puede usar inmediatamente y es estable durante meses.

Consejos

Es una tinción progresiva que produce poca tinción de fondo.

En secciones por congelación se recomienda una doble tinción.

Productos

- Hematoxilina cristalizada (C.I. 75290)
- Glicerol
- Yodato sódico (NaIO₃)
- Alumbre de potasio (sulfato aluminico de potasio)
- Agua destilada

Material

- Probeta
- Balanza
- Agitador magnético
- Vasos de precipitado
- Botellas con cierre hermético de cristal oscuro

Colorante hematoxilina de Ehrlich

La hematoxilina (del griego haimatus: sangre y xilon: madera) es un componente natural obtenido de una planta leguminosa (*Haematoxylum campechianum*). La hematoxilina tiene que ser oxidada a hemateína antes de ser usada como colorante y combinada con un metal que actuará como mordiente. La oxidación puede ser química o por el oxígeno mediante el envejecimiento de la solución. Es el producto oxidado de la hematoxilina, la hemateína, la que realmente se adhiere a las sustancias ácidas del tejido. Fundamentalmente tiñe el núcleo. La hematoxilina, la hemateína como colorante, es un componente de la tinción hematoxilina y eosina, probablemente la tinción general más usada en tinciones histológicas, pero también de otras tinciones como las tricrómicas donde se precisa teñir núcleos.

Procedimiento

- 6 g Hematoxilina cristalizada (C.I. 75290)
- 300 ml Etanol 100°
- 300 ml Agua destilada
- 300 ml Glicerol
- 30 ml Ácido acético glacial
- 30 g Sulfato de aluminio y potasio o amonio (alumbre de potasio o aluminio)
- 0.9 g Yodato sódico

Consejos

Disolver la hematoxilina en el etanol antes de añadir los otros ingredientes en el orden que aparece en la receta. Mezclar durante toda la noche.

El yodato sódico se añade para una oxidación rápida y poder usar la solución tras su mezcla. Pero se puede obviar y esperar a que la hematoxilina se oxide por sí sola, lo que puede tardar unos 2 meses. Esto último es más lento pero la solución es más tiempo útil, pudiéndose usar durante varios años.

La cantidad de alumbre de potasio o aluminio es orientativa puesto que este componente debe estar saturado en la solución. En realidad, es suficiente cuando aparece precipitado en el fondo del recipiente, lo que indica que la solución está saturada.

El tiempo de tinción puede variar entre 2 y 4 minutos.

Productos	Material
Agua destilada	Probeta
Sulfato aluminico potásico o sulfato aluminico de amonio	Balanza
Hematoxilina cristalizada (C.I. 75290)	Agitador magnético
Yodato de sodio	Vasos de precipitado
Glicerol	Botellas con cierre hermético
Ácido acético glacial	

Colorante hematoxilina de Gill

La hematoxilina de Gill es una buena tinción nuclear. Se puede emplear en tinciones generales junto con la eosina. Respecto a otras hematoxilinas es más estable y permite una reproducción de la tinción más precisa. Resalta su capacidad para teñir los nucléolos. Al no tener mercurio ni alcohol es buena como tinción de contraste de otras técnicas como la inmunocitoquímica.

Procedimiento

750 ml	Agua destilada
250 ml	Etilenglicol
2 g	Hematoxilina cristalizada (C.I. 75290)
0.2 g	Yodato de sodio
17,6 g	Sulfato de aluminio
20 ml	Ácido acético glacial

Preparación

La mezcla de los diferentes componentes ha de hacerse en este orden durante una hora aproximadamente. La solución colorante se puede usar inmediatamente

Se puede tener una vida útil más larga que otro tipo de hematoxilinas.

Las cantidades de hematoxilina, yodato de sodio y sulfato de aluminio se pueden incrementar para aumentar la fuerza de la tinción guardando siempre las proporciones de estos tres elementos. Por ejemplo: 4 g, 0.4 g, 40 g, o 6 g, 0,6 g, 80 g, respectivamente. Los otros componentes se mantienen constantes en sus cantidades.

Cuando se usan concentraciones elevadas de hematoxilina, yodato de sodio y sulfato de aluminio se puede usar diluida 5 veces con agua destilada antes de usarla.

Productos	Material
Hematoxilina cristalizada (C.I. 75290)	Probeta
Etilenglicol	Balanza
Yodato sódico (NaIO_3)	Agitador magnético
Sulfato de aluminio ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$)	Placa calefactora
Ácido acético glacial	Vasos de precipitado
Agua destilada	Botellas con cierre hermético de cristal oscuro

Colorante hematoxilina de Harris

La hematoxilina (del griego haimatus: sangre y xilon: madera) es un componente natural obtenido de una planta leguminosa (*Haematoxylum campechianum*). La hematoxilina tiene que ser oxidada a hemateína antes de ser usada como colorante y combinada con un metal que actuará como mordiente. La oxidación puede ser química o por el oxígeno mediante el envejecimiento de la solución. Es el producto oxidado de la hematoxilina, la hemateína, la que realmente se adhiere a las sustancias ácidas del tejido. Fundamentalmente tiñe el núcleo. La hematoxilina, la hemateína como colorante, es un componente de la tinción hematoxilina y eosina, probablemente la tinción general más usada en tinciones histológicas, pero también de otras tinciones como las tricrómicas donde se precisa teñir núcleos.

La hematoxilina de Mayer es uno de los tipos de hematoxilina que se emplean normalmente en las tinciones de hematoxilina-eosina. Su modo de tinción es progresiva, es decir, cuanto más tiempo en la solución colorante más tinción se consigue en el tejido.

Procedimiento

1000 ml	Agua destilada
50 g	Sulfato alumínico potásico o sulfato alumínico de amonio
1 g	Hematoxilina cristalizada (C.I. 75290)
0.2 g	Yodato de sodio
1 g	Ácido cítrico
50 g	Hidrato de cloral

Consejos

Añadir el sulfato hasta que esté completamente disuelto y posteriormente añadir la hematoxilina. Cuando la hematoxilina esté completamente disuelta se añade el ácido cítrico, el hidrato de cloral y yodato de sodio. Hervir durante 5 minutos, enfriar y filtrar. Puede ser usada de inmediato.

Productos

Agua destilada

Sulfato alumínico potásico o sulfato alumínico de amonio

Hematoxilina cristalizada (C.I. 75290)

Yodato de sodio

Ácido cítrico

Hidrato de cloral

Colorante hematoxilina de Weigert

La hematoxilina (del griego haimatus: sangre y xilon: madera) es un componente natural obtenido de una planta leguminosa (*Haematoxylum campechianum*). La hematoxilina tiene que ser oxidada a hemateína antes de ser usada como colorante y combinada con un metal que actuará como mordiente. La oxidación puede ser química o por el oxígeno mediante el envejecimiento de la solución. Es el producto oxidado de la hematoxilina, la hemateína, la que realmente se adhiere a las sustancias ácidas del tejido. Fundamentalmente tiñe el núcleo. La hematoxilina, la hemateína como colorante, es un componente de la tinción hematoxilina y eosina, probablemente la tinción general más usada en tinciones histológicas, pero también de otras tinciones como las tricrómicas donde se precisa teñir núcleos.

Hematoxilina de Weigert o hematoxilina férrica; se utiliza para la tinción de núcleos cuando se usa a continuación una sustancia ácida. La hematoxilina se aplica junto con un mordiente que contiene aluminio potásico o aluminio amónico y por ello no se elimina en la solución ácida posterior. La hematoxilina y el mordiente se almacenan por separado y se aplican al tejido conjuntamente. El color resultante es negro o púrpura muy oscuro. Se emplea en soluciones tricrómicas como el van Gieson.

Procedimiento

Solución A (Hematoxilina)

1 g Hematoxilina cristalizada (C.I. 75290)
100 ml Etanol 960

Solución B (Cloruro de hierro)

1.16 g Cloruro de hierro (III)
1 ml Ácido clorhídrico (25%)
99 ml Agua destilada

Consejos

Los dos componentes se almacenan por separado y se unen cuando se va a realizar la tinción. Se añade 100 mL de la solución A a otros 100 ml de la solución B, y se mezcla la solución resultante. El tiempo de tinción depende de la técnica y tejido usado.

Tras la tinción con la solución de hematoxilina, y tras lavar en agua corriente abundantemente (30 min), se pueden incubar las secciones en hidrógeno carbonato de sodio al 01 % en agua destilada para que los núcleos adquieran un color azulado. El tiempo para conseguir el color deseado depende de la coloración que queramos conseguir, lo cual se puede controlar mediante la observación de las secciones al microscopio.

Productos	Material
Hematoxilina cristalizada (C.I. 75290)	Probeta
Cloruro de hierro (III)	Balanza
Ácido clorhídrico	Agitador magnético
Etanol 960	Vasos de precipitado
Agua destilada	Botellas con cierre hermético

Picrofucsina de van Gieson

La picrofucsina de van Gieson se emplea en la técnica de tricómico de van Gieson. Fundamentalmente tiñe fibras del tejido conectivo como el colágeno y las fibras reticulares.

Procedimiento

Solución A

1 g Fucsina ácida (C.I. 75290)

100 ml Agua destilada

Solución B

Solución saturada Ácido pícrico

Consejos

Las soluciones A y B se mezclan en una proporción 1:45. Esta solución de trabajo se puede usar en el momento o dejar madurar varias semanas. En cualquier caso, antes de usar se le puede añaden 0.25 ml de ácido clorhídrico.

Productos

Fucsina ácida (C.I. 75290)

Ácido clorhídrico

Solución saturada de ácido pícrico

Agua destilada

Material

Probeta

Balanza

Agitador magnético

Vasos de precipitado

Botellas con cierre hermético

Reactivo de Schiff

Es un reactivo muy utilizado en la tinción de PAS-hematoxilina. Es un compuesto preparado a partir de fucsina básica (clorhidrato de pararosanilina), ácido clorhídrico y metabisulfito sódico o potásico. Se utiliza tradicionalmente para detectar polisacáridos, más concretamente grupos aldehídos que se crean en sus moléculas durante el proceso de tinción (ver el protocolo de la tinción de PAS-Hemantoxilina). Hay varias maneras de prepara el reactivo de Schiff según se describe en el libro de Martoja y Martoja. "Initiations aux techniques de l'hisotlogie animale". Pierson 1970 (Edición en español de 1970, Toray-Masson).

Procedimiento

Método de Coleman

200 ml Agua hirviendo

1 g Fucsina básica (clorhidrato de pararosanilina)

Dejar enfriar tras la disolución

2 g Metabisulfito potásico

10 ml Ácido clorhídrico normal

Al cabo de 24 h se añade:

0.5 g Carbón activo

Agitar vigorosamente durante 1 min, dejar sedimentar y filtrar

Método de Lillie

1 g Fucsina básica

1,9 g Metabisulfito sódico

100 ml a 0.15 N Áido clorhídrico

Dejar que la solución se decolore agitando de vez en cuando. Cuando haya una casi total decoloración (12 a 24 h) se continúa con la receta

0.5 g Carbón activo

Agitar vigorosamente durante 1 min, dejar sedimentar y filtrar

Método de Graumann

0.5 g Fucsina ácida

0.5 g Metabisulfito potásico

15 ml a 1 N Ácido clorhídrico

85 ml Agua destilada

Mezclar las soluciones, dejar sedimentar durante 24 h. Cuando se alcance una decoloración casi total se sigue con la receta

0.5 g Carbón activo

Agitar vigorosamente durante 1 min, dejar sedimentar y filtrar

Consejos

Independientemente del método de preparación del reactivo de Schiff, éste debe conservarse en la oscuridad en un frasco cerrado herméticamente. Es conveniente conservarlo en un frigorífico. Antes de cada uso comprobar que el reactivo desprende un olor sulfuroso. De lo contrario añadir 1 gota de ácido clorhídrico concentrado y unos decigramos de metabisulfito.

Productos

Fucsina básica
 Metabisulfito sódico
 Metabisulfito potásico
 Ácido clorhídrico
 Carbón activo
 Agua destilada

Material

Probeta
 Balanza
 Agitador magnético / placa térmica
 Vasos de precipitado
 Botellas con cierre hermético
 Papel de aluminio para mantenerlo en oscuridad
 Nevera para su conservación

Colorante safranina

La safranina es un colorante catiónico que aporta color rojo a las estructuras histológicas. Es muy usada en histología vegetal donde tiñe de rojo los núcleos y la lignina de las paredes celulares secundarias. También se usa en las tinciones Gram para bacterias.

Procedimiento (Safranina / azul alcian o Verde rápido).

1 g Safranina (C.I. 75100)

15,5 ml Etanol 95°

14.5 ml Agua destilada

Consejos

Antes de usar, mezclar la solución madre y etanol 50o (1:1

Productos

Agua destilada

Safranina (C.I. 75100)

Etanol 95°

Etanol 50°

Material

Probeta

Balanza

Agitador magnético

Vasos de precipitado

Botellas con cierre hermético

Colorante verde luz / verde rápido

El verde luz (C.I. 42095) y el verde rápido (C.I. 42053) son dos colorantes muy solubles en agua que se usan en tinciones de conectivo, normalmente como parte de tinciones tricrómicas en tejidos animales y también se usa para tejidos de plantas en combinación con la safranina. Se pueden usar indistintamente ya que aportan las mismas propiedades pero el verde rápido su coloración es más duradera en el tiempo.

Verde luz (tricrómico de Masson)

2 g Verde luz
2 ml Ácido acético
Hasta 98 ml Agua

Verde rápido (tricrómico de Masson)

0.2 g Verde rápido
100 ml Agua

Verde rápido (tinción vegetal)

1 g Verde rápido
50 ml Etanol 100°
50 ml Esencia de clavo

Productos

Agua destilada
Verde luz (C.I. 42095)
Verde rápido (C.I. 42053)
Ácido acético
Esencia de clavo

Material

Probeta
Balanza
Agitador magnético / placa térmica
Vasos de precipitado
Botellas con cierre hermético

Colorante violeta de cresilo

El violeta de cresilo acetato es un colorante sintético básico que se emplea para teñir sobre todo sistema nervioso, aunque también para mastocitos y gránulos del cartílago (no confundir el violeta de cresilo con el cristal violeta que se usa para tinciones Gram bacterianas). En el sistema nervioso, el violeta de cresilo se usa en conjunción con el luxol azul rápido (luxol fast blue), el cual tiñe los lípidos concentrados en la mielina.

Procedimiento (a)

0,1 g Violeta de cresilo

100 ml Agua destilada

Dos gotas (unos 0,25 ml). Ácido acético.

Procedimiento (b)

0,6 ml en 100 ml de agua destilada (A) Ácido acético

1,36 mg en 100 ml de agua destilada (B) Acetato sódico

Solución A:B (9:1) Tampón acetato

1 g en 100 ml de agua Violeta de cresilo

Tampón acetato: violeta de cresilo 1 % (1:1) Solución de violeta de cresilo

Consejos

En el procedimiento B, antes de mezclar el tampón acetato con la solución al 1 % de violeta de cresilo se ajusta el pH del tampón a 3,7.

Productos	Material
Xileno	Cubetas de tinción
Etanol de 50°, 70°, 80°, 90°, 96° y 100°	Filtro de papel
Violeta de cresilo	Probeta
Ácido acético	Botes
Acetato sódico	Cesta para portas
H ₂ O destilada	Cubreobjetos
Medio de montaje	