

## 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<sup>1</sup>. Generalmente, son tintes nucleares, colágenos y citoplásmicos en mordientes tales como ácido fosfotúngstico o fosfomolibdico. Históricamente, el primer sistema tricrómico se atribuye a Mallory<sup>2,3</sup>. Otras modificaciones fueron introducidas por Masson, Foot y Gomori<sup>2,4</sup>. 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 acético<sup>4</sup>. 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 transparentes<sup>4</sup>. Se incluye una técnica de tinción tricrómica de Gomori para la tinción rápida en hornos microondas<sup>5,6</sup>.

## REACTIVOS

**SOLUCIÓN DE TINCIÓN TRICRÓMICA LG**, número de catálogo HT10316-500 ml 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 HT10516-500 ml 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.

## 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-A3 de la CLSI. 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, número de catálogo T8800 o TTR012, deben utilizarse en cada proceso.

Solución de ácido acético 1N

Solución de Bouin, número de catálogo HT10132-1L o HT101128-4L, ácido pícrico acuoso saturado, 71 %, formaldehído, 24 %, y ácido acético, 5 %

### SÓLO PARA PROCEDIMIENTOS ESTÁNDAR:

Solución de hematoxilina férrica de Weigert, número de catálogo HT1079

Solución de hematoxilina férrica de Weigert, Parte A, número de catálogo HT107-500 ml, hematoxilina, 1 %, certificada en etanol

Solución de hematoxilina férrica de Weigert, Parte B, número de catálogo HT109-500 ml, 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 GHS3-100 ml

Concentrado de Scott sustituto del agua corriente, número de catálogo S5134-6 x 100ml  
Horno microondas

### NOTAS:

Si se utiliza el horno microondas, 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:

- Preparar la solución de hematoxilina férrica de Weigert según las instrucciones indicadas en la etiqueta.
- Desparafinar e hidratar los portaobjetos con agua desionizada.

- Colocar los portaobjetos en solución de Bouin precalentada a 56 °C durante **15 minutos o a temperatura ambiente durante la noche**.
- Enfriar los portaobjetos en agua del grifo (**18–26 °C**), dentro de un vaso de Coplin.
- Lavar los portaobjetos con agua corriente del grifo para eliminar el amarillo de los cortes.
- Teñir en solución de hematoxilina férrica de Weigert durante **5 minutos**.
- Lavar durante **5 minutos** con agua corriente del grifo.
- Teñir con solución de tinción tricrómica (LG o AB) durante **5 minutos**.
- Colocar en ácido acético al 0,5 % durante **1 minuto**.
- Aclarar los portaobjetos, deshidratar en alcohol, aclarar en xileno y montar.

### PROCEDIMIENTO CON MICROONDAS

- Desparafinar e hidratar los portaobjetos con agua desionizada.
- 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.
- 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.
- Aclarar con agua corriente del grifo hasta que desaparezca el color amarillo.
- Colocar los portaobjetos en **40 ml** de solución de hematoxilina de Gill N° 3, dentro de un vaso de Coplin de plástico.
- Poner en el horno microondas a **800 vatios** durante **5 segundos**.
- Aclarar bien con agua corriente del grifo de **30 segundos a 1 minuto**.
- Azular en concentrado de Scott sustituto del agua corriente a **temperatura ambiente**.
- Aclarar bien con agua corriente del grifo.
- Colocar los portaobjetos en **40 ml** de solución de tinción tricrómica (LG o AB), dentro de un vaso de Coplin de plástico.
- 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**.
- Aclarar rápidamente con agua del grifo.
- Sumergir los portaobjetos en ácido acético al 1 % de **30 segundos a 1 minuto**, a **temperatura ambiente**.
- 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

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

TISSUE-TROL es marca comercial de Sigma-Aldrich Co. LLC

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: 2003-09  
Revisión: 2013-02



AR-MED, a division of Quintiles Ltd  
Runnymede Malthouse  
Off Hummer Road  
Egham  
Surrey  
TW20 9BD  
United Kingdom

### 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 5750  
o por correo electrónico a [clintech@sial.com](mailto:clintech@sial.com)

Para realizar pedidos: a cobro revertido al  
+1 314 771 5750

[www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)

### SIGMA-ALDRICH INTERNATIONAL GmbH

Wassergasse 7  
900 St. Gallen  
Switzerland  
41 71 242 8000