

**REF** N° de catálogo: 2000083200

**IVD** Reactivo de Diagnóstico para Uso in Vitro

#### Uso previsto

Hematoxilina de Harris es la solución más utilizada en el ámbito de la histología y la citología. Es el reactivo que pone de manifiesto las estructuras nucleares de la célula, nucleoproteínas o ácidos nucleicos, en muestras de tejido fijado y parafinado, extendidos citológicos y muestras de tejidos congelados.

#### Principio

La Hematoxilina es un compuesto que por efecto de su oxidación pasa a constituir una sustancia de color morado oscuro denominada "hemateína". La hemateína es la que le confiere propiedades tinteras a la solución de Hematoxilina.

La Hematoxilina de Harris Solución cuenta con un agente oxidante y un mordiente en su composición. Su modo de acción es de tipo "regresivo", sobretiñendo la muestra para luego eliminar el exceso de colorante en pasos de diferenciación rápidos.

La coloración azul del núcleo celular se produce por la unión del complejo catiónico aluminio-hemateína que es atraído a los aniones de fosfato presentes en el ADN de las células. Lo mismo ocurre con los residuos de arginina (aminoácido básico) de las histonas nucleares.

#### Reactivos y presentación

Botella 1000 mL Cat. 2000083207

Botella 500 mL Cat. 2000083208

#### Materiales auxiliares no suministrados

- Solución Diferenciadora (opcional)
- Solución de Ácido Clorhídrico al 3 % en Alcohol 70 %.
- Solución azulante o Bluing (opcional)
- Agua de Scott o Solución Alcalina débil, ó Solución de 0,5 g de Carbonato de Litio en 1000 mL de Agua desmineralizada o destilada.

#### Contratinción

- Eosina amarillenta 0,5 % Acuosa (Biopack cat. N° 2000937100)
- Eosina amarillenta 0,5 % Alcohólica (Biopack cat. N° 2000937000)
- Eosina Amarillenta Alto Contraste (Biopack cat. N° 2000936900)
- Etanol 96 ° o Deshidratante 90 ° (Biopack cat. N° 2000938300)
- Etanol absoluto 100 ° o Deshidratante 100 ° (Biopack cat. N° 2000948300)
- Xileno o sustituto Bioclear (Biopack cat. N° 2000942700)
- Bálsamo de Canadá sintético (Biopack cat. N° 2000130300)
- Cubreobjetos

#### Preparación del reactivo

Hematoxilina de Harris Solución es un producto listo para usar.

Una vez abierto el envase no es necesario el filtrado del producto.

Luego de abierto y estando en uso en cubeta de tinción se recomienda filtrar la solución antes de usar.

#### Preparación de muestras

1. Cortes histológicos parafinados o de tejido fresco montados en portaobjetos
2. El espesor de los cortes histológicos debe ser el adecuado para evitar la superposición celular. Se recomienda entre 3 y 5 micrones.
3. En el caso de cortes histológicos congelados o extendidos citológicos previamente fijados, proceder desde el "paso 5" del procedimiento:

## Protocolo de Tinción Hematoxilina - Eosina

Procedimiento de tinción de Hematoxilina y Eosina para cortes histológicos fijados y parafinados.

El espesor de los cortes histológicos estándar deberá ser de entre 3 y 6 micrones para lograr una correcta visualización de células minimizando la superposición.

#### Técnica de Uso

1. Desparafinar los cortes / láminas por inmersión en 2 cambios de Xilol (cod. 2000166200) o Bioclear (cod. 2000942700) de 15 minutos cada uno.
2. Hidratar los cortes con sucesivos pasajes por alcoholes (Alcohol Etílico absoluto cod. 2000165400, Alcohol Etílico 96° cod. 200093750) o Deshidratantes Uso Histológico (Deshidratante 80° cod. 2000938200, Deshidratante 90° cod. 2000938300, Deshidratante 100° cod. 2000948300), con graduación decreciente terminando con un lavado por inmersión en Agua desmineralizada (cod. 2000140110), durante 2 a 3 minutos.
3. Teñir por inmersión en solución de Hematoxilina (Hematoxilina de Harris cod. 2000083200, Hematoxilina de Mayer cod. 2000948900, Hematoxilina de Gill (I) cod. 2000937400, Hematoxilina de Gill (II) cod. 2000949100, Hematoxilina de Gill (III) cod. 2000110100) (\*1).
4. Proceder con el virado por inmersión en Agua corriente, durante al menos 5 minutos (\*2).
5. Realizar una lavado por inmersión en Agua desmineralizada (cod. 2000140110).
6. Teñir con solución de Eosina Amarillenta (Eosina amarillenta 0,5 % cod. 2000110500, Eosina amarillenta 0,5 % acuosa cod. 2000937100, Eosina amarillenta 0,5 % alcohólica cod. 2000937000, Eosina amarillenta Alto Contraste cod. 2000936900) (\*3).
7. Realizar un lavado rápido por inmersión en Agua Destilada (cod. 2000140110).
8. Deshidratar los cortes con sucesivos pasajes por Alcoholes (Alcohol Etílico absoluto cod. 2000165400, Alcohol Etílico 96° cod. 200093750) o Deshidratantes Uso Histológico (Deshidratante 80° cod. 2000938200, Deshidratante 90° cod. 2000938300, Deshidratante 100° cod. 2000948300), con graduación creciente.
9. Aclarar los cortes / láminas por inmersión en 2 cambios de Xilol (cod. 2000166200) o Bioclear (cod. 2000942700). Al menos dejar aclarando en reposo durante 5 minutos.
10. Realizar el montaje final con cubreobjeto y Bálsamo de Canadá sintético (cod. 2000130300).

#### Resultados

Núcleo celular: Violeta azulado  
Citoplasma: Rosa pálido o fuerte  
Tejido muscular: Rojo, Rosa o Fucsia  
Eritrocitos: Rojo anaranjado

(\*1) Para el procedimiento de tinción Hematoxilina - Eosina, existen varias opciones de solución de Hematoxilina, todas ellas se aplican de manera similar en la técnica, con variantes en los tiempos de tinción.

(\*2) El virado puede acelerarse con agua corriente caliente o aplicando soluciones azulantes.

(\*3) Para el procedimiento de tinción Hematoxilina - Eosina, existen varias opciones de solución de Eosina, todas ellas se aplican de manera similar en la técnica, con variantes en los tiempos de tinción.

#### Notas técnicas

1. El tiempo de tinción puede variar según las preferencias de intensidad tonal del usuario.
2. Luego de un uso intensivo del producto, podrían ajustarse los tiempos de acción del colorante o renovar la solución.
3. Los núcleos de color púrpura o marrón rojizo son indicativos de un virado o azulado inadecuado.
4. El resultado de la tinción puede verse influenciado por factores como la fijación y los tiempos de inmersión en sus componentes.
5. El agua corriente del grifo en algunos casos puede ser de tipo ácida por lo tanto inadecuada para su uso en la etapa de virado o azulado; en reemplazo utilice una solución alcalina diluida.
6. De ser excesiva la tinción con eosina podría verse afectado su adecuado contraste con la tinción nuclear. Para aumentar la diferenciación de la eosina, extienda el tiempo en los pasos por alcoholes de deshidratación o realice un lavado en alcohol al 70% luego de su aplicación.

#### Tiempos de tinción

Hematoxilina de Harris (cod. 2000083200): 1 / 2 minutos.

Hematoxilina según Gill (I) (cod. 2000937400): 5 / 10 minutos.

Hematoxilina según Gill (II) (cod. 2000949100): 2 / 5 minutos.

Hematoxilina según Gill (III) (cod. 2000110100): 2 / 5 minutos.

Hematoxilina de Mayer (cod. 2000948900): 10 / 15 minutos.

Se recomienda que el usuario realice ensayos de puesta a punto en los tiempos de tinción, para lograr la intensidad deseada. Los tiempos de aplicación recomendados son a modo referencial.

Eosina Amarillenta 0,5 % (cod. 2000110500): 5 / 10 minutos.

Eosina Amarillenta 0,5 % Acuosa (cod. 2000937100): 3 / 5 minutos.

Eosina Amarillenta 0,5 % Alcohólica (cod. 2000937000): 1 / 3 minutos.

Eosina Amarillenta Alto Contraste (cod. 2000936900): 15 segundos / 1 minuto.

Se recomienda que el usuario realice ensayos de puesta a punto en los tiempos de tinción, para lograr la intensidad deseada.

#### Tinción según Papanicolaou

Protocolo de Tinción según Papanicolaou

#### Colorantes y reactivos necesarios

- Fijador Citológico PATHOFIX (cat. 2000953000)
- Fijador Citológico SACCOMANNO (cat. 2000948800)
- HEMATOXILINA DE HARRIS (cat. 2000083200)
- HEMATOXILINA DE GILL (I) (cat. 2000937400)
- HEMATOXILINA DE GILL (II) (cat. 2000949100)
- HEMATOXILINA DE GILL (III) (cat. 2000110100)
- OG Citológico (cat. 2000937200)
- OG 6 (cat. 2000110200)
- EA Citológico (cat. 2000937300)
- EA 36 (cat. 2000110300)
- EA 50 (cat. 2000110700)
- DESHIDRATANTE 80° (cat. 2000938200)
- DESHIDRATANTE 90° (cat. 2000938300)
- DESHIDRATANTE 100° (cat. 2000948300)
- BIOCLEAR (cat. 2000942700)
- BALSAMO DE CANADA SINTETICO (Cat. 2000130300)
- Alcohol Etílico 96°
- Alcohol Etílico absoluto
- Xilol

#### Descripción

El método policromático de tinción según Papanicolaou es el más utilizado para el diagnóstico de muestras citológicas cérvico-vaginales, líquidos o fluidos obtenidos por punción, y exudados y secreciones corporales en la medicina humana.

#### Principio

El método PAP de tinción consta de tres etapas:

1. Tinción para visualizar los núcleos celulares, con solución de Hematoxilina de Harris o con solución de Hematoxilina de Gill.
2. Tinción de citoplasmas celulares con solución OG: presenta alta afinidad por células maduras y queratinizadas, con un patrón de tinción de diferentes tonalidades anaranjadas.
3. Tinción con solución policroma EA: estos colorantes tiñen en forma diferenciada los citoplasmas de células escamosas maduras, inmaduras, células ciliadas y mucina.

#### Preparación de muestras

Para lograr una satisfactoria preparación citológica es necesario que la toma o recolección del material sea adecuada. Que el extendido del material no cuente con grandes conglomerados de material (superposición celular). Esto dificulta la fijación, la correcta tinción y la posterior visualización al microscopio.

#### Fijación

1. Citología ginecológica: realizar la fijación de la muestra inmediatamente después de realizado el extendido sumergiendo en Alcohol Etílico 96° o rociando con Fijador Citológico Pathofix. Continuar con procedimiento de tinción.
2. Citología oncológica y/o ginecológica: Agregar solución de Fijador de Saccomano a

igual volumen de muestra, homogenizar y dejar fijar durante 60 minutos. Centrifugar, realizar extendidos citológicos y dejar secar para lograr mayor adhesión de la muestra. Continuar con procedimiento de tinción.

## Procedimiento de tinción

- 1- Sumergir los extendidos en Alcohol Etílico 96° por 5 minutos.
- 2- Lavar en agua destilada, varias inmersiones.
- 3- Teñir con solución de Hematoxilina de Harris o solución de Hematoxilina de Gill (I), de 40 segundos a 2 minutos (\*1).
- 4- Virar en agua corriente 5 minutos.
- 5- Sumergir los extendidos en Alcohol Etílico 96°, varias inmersiones.
- 6- Teñir con solución OG Citológico durante 2 a 3 minutos (\*2).
- 7- Sumergir los extendidos en Alcohol Etílico 96°, varias inmersiones.
- 8- Teñir con solución EA Citológico, de 1 a 2 minutos (\*3).
- 9- Sumergir los extendidos en Alcohol Etílico 96° o Deshidratante 80°, varias inmersiones.
- 10- Sumergir los extendidos en Alcohol Etílico 96° o Deshidratante 90°, varias inmersiones.
- 11- Sumergir los extendidos en Alcohol Etílico absoluto o Deshidratante 100°, varias inmersiones.
- 12- Sumergir los extendidos en Xilol o Bioclear (sustituto del Xilol), varias inmersiones y dejar reposar 3 minutos.
- 13- Sumergir los extendidos en Xilol o Bioclear (sustituto del Xilol), varias inmersiones y dejar reposar 10 minutos.
- 14- Montar con Bálsamo de Canadá Sintético y cubreobjetos. En el caso de montar con Bioclear, se recomienda eliminar el exceso de aclarante, para que el bálsamo se disperse y cubra por completo la muestra al colocar el cubreobjeto.
- 15- Observar al microscopio.

(\*1) Alternativamente se puede utilizar en el proceso de tinción las soluciones de Hematoxilina de Gill (II) y Hematoxilina de Gill (III). El usuario deberá ajustar el procedimiento y tiempos de tinción según su experiencia, para el uso de estas soluciones.

(\*2) Alternativamente se puede utilizar en el proceso de tinción la solución OG 6 . El usuario deberá ajustar el procedimiento y tiempos de tinción según su experiencia, para el uso de esta solución.

(\*3) Alternativamente se puede utilizar en el proceso de tinción la solución EA 36 y EA 50. El usuario deberá ajustar el procedimiento y tiempos de tinción según su experiencia, para el uso de estas soluciones.

## Resultados

Núcleos: Azul

Células superficiales: Rosa

Células Acidófilas: Rojo

Células Intermedias y parabasales: Azul

Células basófilas: Azul

Eosinófilos: Naranja-Rojo

Eritrocitos: Rojo-Naranja

Cándidas: Rojo

Queratina: Naranja-Rojo

Trichomonas: Verde-Azul

## Recomendaciones

El tiempo de tinción de la Hematoxilina de Harris o de la Hematoxilina de Gill debe ser riguroso y periódicamente revisado, para no provocar fenómenos de hipercromasia.

Los colorantes OG y EA actúan por saturación. Los tiempos de tinción del presente protocolo son estimativos pudiendo ser modificados y puestos a punto por cada usuario según los hábitos y modalidades de trabajo.

## Precauciones

Se deben seguir las precauciones habituales ejercidas en el manejo de reactivos de laboratorio. Referirse a la Hoja de Seguridad del producto para obtener información sobre riesgo, peligro o medidas de seguridad.

## Solamente para uso profesional

El uso y aplicación de este tipo de reactivos debe ser realizado por personal especializado. El usuario deberá cumplir las directivas locales sobre seguridad en el trabajo y aseguramiento de la calidad.

## Protección contra infecciones

El profesional a cargo del uso o aplicación deberá contar con equipamiento de protección eficaz contra infecciones de acuerdo con las directivas de trabajo establecida en laboratorios asistenciales o de investigación.

## Indicaciones para la eliminación de residuos

Las soluciones usadas y las soluciones caducas deben eliminarse como desecho peligroso, cumpliendo con las regulaciones locales, estatales, provinciales o nacionales acerca del manejo de este tipo de residuos. El envase del producto debe ser eliminado de acuerdo con las directivas vigentes de eliminación de residuos.

## Clasificación de substancias peligrosas

Tener en cuenta la clasificación de substancias peligrosas en la etiqueta y las indicaciones en la ficha de datos de seguridad.

Todos nuestros productos cuentan con su correspondiente ficha técnica y de seguridad, disponibles en forma on line: <https://www.biopack.com.ar>

## Estabilidad y almacenamiento

Almacenar el reactivo a temperatura ambiente (entre 15°C a 30°C) y protegido de la luz. La solución es estable hasta la fecha de vencimiento que se declara en la etiqueta. Si el tiempo de tinción se vuelve excesivo o si el color de la solución cambia de ciruela a azul o marrón, descarte la solución.

## Información para el consumidor

El producto está garantizado por el fabricante hasta su fecha de vencimiento si se lo transporta y almacena en las condiciones prescriptas. Ante cualquier consulta, el fabricante puede ser contactado personalmente, por email o por teléfono o ingresando en [www.biopack.com.ar](http://www.biopack.com.ar) solapa de contacto

## Referencias

- Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition.
- Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg
- Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology, 3rd ed., LG Luna, Editor, McGraw Hill, New York, 1968

Consultar instrucciones de uso en [www.biopack.com.ar](http://www.biopack.com.ar)

 Número de catálogo

 Reactivo de Uso in Vitro

 Elaborador

 Consultar instrucciones de uso

 Contiene suficientes para <n> pruebas

 Elaborado por:  
SISTEMAS ANALITICOS S.A.

**Sistemas  
Analíticos**

Director técnico: Marcelo L. Palacios, Farmacéutico M.N. 12407.

Reactivos de Diagnóstico de Uso in Vitro.  
Producto autorizado por ANMAT, Certificado PM-1132-7.  
Uso profesional exclusivo