

P.M.V.Z. MARIO ALFONSO ANCIRA CAMPOS

ASESOR . M.V.Z. VICTOR BARRAGAN CANO

" APLICACION Y ESTANDARIZACION DE LAS TECNICAS DE VERHOEFF, METODO DE JAMES Y AZUL DE TOLUIDINA PARA LA OBSERVACION DE LAS FIBRAS ELASTICAS, FIBRAS RETICULARES Y CELULAS CEBADAS (CELULAS DE MAST O MASTOCITOS) COMO APOYO A LA ENSEÑANZA PRACTICA DE LA HISTOLOGIA "

GUADALAJARA, JAL. ABRIL DE 1988

INDICE GENERAL

	Pág
INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	11
MATERIAL Y METODOS	12
RESULTADOS	20
DISCUSION	22
CONCLUSIONES	25
SUMARIO	26
REFERENCIAS	
BIBLIOGRAFICAS	27

I N T R O D U C C I O N

ANTECEDENTES HISTORICOS

La Histología, en la medicina ha sufrido a través del tiempo una evolución de gran importancia, considerando que anteriormente las prácticas que se efectuaban para el estudio de las estructuras de los órganos se realizaban por observación directa, y eran sólo estudiados macroscópicamente con la consecuente limitación de los conocimientos sobre la estructura de los tejidos a sólo la textura de sus capas y anatomía macroscópica; posteriormente se utilizó la lupa como un instrumento auxiliar, para hacer visibles los detalles que a simple vista no se observan.

Algunos científicos al hacer experimentos con el uso de lentes dieron origen al invento del microscopio. Cuando Robert Hooke (siglo XVII) construyó un microscopio compuesto, con el cual observó un pequeño corte de corcho y descubrió que éste , estaba formado por pequeños compartimientos a los que llamo " Célula " .

A la vez otros estudiosos de la época estudiaron tejidos animales microscópicamente y se observó que también estaban formados por esos pequeños compartimientos, que al mismo tiempo se encontraban separados entre si por paredes.

Con el uso del microscópio, en los estudios Histológicos se llegó a la conclusión de que la célula era la unidad viva fundamental de animales y vegetales. Por lo tanto tras continuos estudios se llegó a la clasificación de los cuatro tejidos básicos y cada uno de ellos con su subclasificación que ahora conocemos.

Así, desde entonces, el microscópio se considera -impresindible para todo laboratorio de Histología, tanto para el estudio de cortes histológicos como para llevar un control de calidad de colorantes utilizados para tinciones de los cortes, los que mejoran la observación y -descripción microscópica.

La Histología se convirtió en una ciencia fundamental para otras ciencias biológicas como la bioquímica genética, biología celular, inmunología, patología, etc. Ahora se cuenta con una serie de microscópios especiales los cuales tienen su clasificación de acuerdo al tipo de fuente luminosa que utilizan. (1 , 6 , 8 , 10)

TIPOS DE MICROSCOPIOS :

- 1.- Microscópio de Luz (Optico)
- 2.- Microscópio de Campo Oscuro
- 3.- Microscópio Electronico
- 4.- Microscópio de Contraste de Fase
- 5.- Microscópio de Polarización
- 6.- Microscópio de Fluorecencia
- 7.- Microscópio de Interferencia
- 8.- Microscópio de Rayos X

En la Histología para cualquier preparación microscópica van a intervenir diversos procedimientos de tinción.

Primeramente hablaremos de lo que es un colorante. Un colorante es un cuerpo pigmentado, el cual puede transmitir su pigmentación a otros cuerpos.

La coloración es la propiedad de ciertos cuerpos de ejercer sobre la luz una absorción selectiva.

Los colorantes se eligen con el fin de obtener un contraste y una representación de lo mas variada posible - entre las distintas estructuras, los métodos histológicos de tinción han sido generalmente elaborados empíricamente y se desconocen gran parte de sus mecanismos de reacción.

CLASIFICACION DE LOS COLORANTES

Colorantes Naturales . Son colorantes extraídos de productos animales o vegetales.

Colorantes Artificiales . Conocidos también como colorantes de anilina, carbón o sintéticos.

Casi todos los colorantes usados en la Histología son sales que se disocian en agua, se describen como ácidos y básicos.

Si el componente de coloración es un radical ácido, la tinción se designa como ácida, y si es un radical básico se llamara básica.

TIPOS DE TINCIONES

Tinción Regresiva . Cuando el tejido primero se tinte y posteriormente se decolora, usualmente la diferenciación es controlada por medio del microscópio.

Tinción Progresiva . En esta tinción el tejido una vez teñido, no puede ser removido; el tejido es dejado en la tinción hasta que tome la coloración deseada.

REACCIONES DE LA TINCIÓN

Absorción o Tinción Directa . Son aquellas que se producen simplemente por inmersión en el baño colorante.

Tinción Indirecta . La reacción del colorante va a depender del uso de una sustancia intermediaria previamente a la tinción, tratandolo con un mordente.

Tinción Física . Esto es simplemente solubilidad del colorante en los elementos de la célula.

Tinción Química . La formación de una nueva sustancia la cual es irreversible.

Adsorción . La adsorción es la acumulación sobre la superficie de los componentes celulares (por afinidad o por atracción eléctrica). (1 , 4 , 8 , 10 , 12)

Las técnicas de tinción utilizadas en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, para la enseñanza de la Histología son limitadas, además de inespecíficas por lo cual consideramos que con la estandarización de las técnicas específicas que proponemos servirán de - auxilio para la enseñanza práctica de los alumnos, en especial sobre algunas estructuras histológicas, las cuales son fácilmente demostradas, comprendidas como por ejemplo los elementos del Tejido Conectivo.

El Tejido Conectivo es uno de los cuatro tejidos básicos del organismo clasificados histológicamente, y dentro de la sub-clasificación del tejido conectivo, - nos enfocaremos al estudio de :

- A).- Fibras Elásticas
- B).- Fibras Reticulares
- C).- Células de Mast o
Células Cebadas

FIBRAS ELASTICAS

CARACTERISTICAS MICROSCOPICAS

Las fibras elásticas se observan como filamentos largos o como cintillas aplanadas, brillantes, mucho más - delgadas que las fibras colágenas; las fibras elásticas - tienen un espesor de una a cinco micras, aunque en algu-- nos ligamentos elásticos pueden tener un diametro de 10 a 12 micras. Se caracterizan por su gran elasticidad, tan to de flexión como de extensión, ceden al estiramiento - hasta 2.5 veces de su longitud normal, tomando su forma o riginal al retirarsele la tensión.

Las fibras elásticas se diferencian de las fibras conéctivas, no solo por su extensibilidad, sino por su fuerte refringencia, variado grosor, su capacidad para ramificarse y fusionarse con otras.

En contraste con las fibras colágenas, las fibras elásticas tienen forma homogénea y no fibrilar y pueden dar origen a capas intensas perforadas.

COMPOSICION QUIMICA

El componente característico de las fibras elásticas es la elástina, albuminoide responsable de la elasticidad de la fibra.

Las fibras elásticas son altamente resistentes a los ácidos, alcalis y al cocimiento; y en cambio la elástina puede ser lentamente digerida por la tripsina y pepsina.

CARACTERISTICAS DE TINCION

Las fibras se tiñen en forma irregular con eosina, la captan escasamente y no pueden diferenciarse de otras fibras intercelulares.

En cortes teñidos con Hematoxilina y Eosina van a aparecer de un color rosa pálido; pero pueden ser teñidos selectivamente con Orceina (color pardo), Resorcina Fucsina, Fucsina Acida, Acido Pícrico (Van Gieson).

LOCALIZACION DE LAS FIBRAS ELASTICAS

Prácticamente en todos los tipos de tejido conectivo, ligamentos, pulmones, cartilago elástico, paredes de -

- arterias (membranas internas y externas), tendones, y principalmente en el tejido laxo. (2 , 5 , 8 , 9 , -- 11)

FIBRAS RETICULARES

CARACTERISTICAS MICROSCOPICAS

Las fibras reticulares son fibras que se ramifican formando una red o retículo, las primeras fibras aparecen en el desarrollo y/o la formación del tejido conectivo. Los intersticios de las redes suelen tener dimensiones que mantienen en su sitio a las células, sin embargo las fibras reticulares no son un componente constante del tejido conectivo laxo.

Aparecen como retículos finos alrededor del endotelio de los vasos sanguíneos, alrededor de las fibras musculares, alrededor de las fibras nerviosas, células grasas, entre las divisiones finas del pulmón y especialmente entre los límites del tejido conectivo y otros tipos tisulares por abajo de las membranas epiteliales.

LOCALIZACION DE LAS FIBRAS RETICULARES

Se localizan en órganos hematopoyéticos en los cuales las fibras reticulares dan sostén a células libres y en algunos otros órganos como hígado, bazo, ganglios -- linfáticos.

COMPOSICION QUIMICA

Las fibras reticulares son de menor calibre que las colágenas y tienen un recubrimiento de glucoproteína y proteoglucano.

Se dice que tal vez las fibras reticulares sean fibras de colágena inmaduras o juvenes; las diferencias de coloración entre los dos tipos, pueden provenir del tamaño físico.

Se dice que las fibras reticulares estan formadas por reticulina, aunque algunos autores hacen mención que su composición es colágena y que probablemente son originadas a partir de los fibroblastos.

CARACTERISTICAS DE TINCION

Las fibras reticulares no se identifican en cortes teñidos con técnicas histológicas ordinarias (Hematoxilina y Eosina), pero se demuestra facilmente por técnicas de impregnación Argéutica, se tiñen de negro a diferencia de las de colágena que toman un color amarillo a castaño pardo.

Se tiñen con mayor intensidad con la técnica de P. A. S. Debido a investigaciones y estudios químicos se concluyó que tenían aproximadamente 10 veces mayor cantidad de carbohidratos y que este polizacarido se presentaba revistiendo a las fibras, lo cual explica que se tiñan con técnicas de impregnación Argéutica. (2 , 5 , 7 , - 8 , 11)

CELULAS CEBADAS O DE MAST

Las células de Mast es un tipo celular distribuido ampliamente en el tejido conectivo, son encontradas tempranamente en el desarrollo del tejido embrionario y aparece con mayor frecuencia en el tejido conectivo de los roedores y tienden a presentarse en pequeños grupos en relación con los vasos sanguíneos.

En ocasiones a éste tipo celular se le conoce con el nombre de basófilos tisulares, su tamaño varía de acuerdo a la especie, su forma es irregular, a veces tienen pseudopodos cortos, su núcleo es central, esférico, pálido y pequeño y muy pocas veces es observado, debido a que la característica principal de estas células es la presencia de grandes granulos en su citoplasma, los cuales son refringentes así como hidrosolubles.

Estos granulos contienen dos sustancias de importancia médica, la histamina y la heparina y en algunas especies contienen otra sustancia que es la serotonina. Las células de Mast liberan sustancias involucradas en las respuestas alérgicas y en la anafilaxia (hipersensibilidad). Actúan liberando heparina e histamina durante el shock anafiláctico, una condición potencialmente fatal cuando el organismo entra en contacto con un antígeno al cual ha sido previamente sensibilizado.

La heparina contenida en los granulos es un glucosaminoglucano sulfatado, el cual es un anticoagulante muy importante; el fibrinógeno y otras proteínas que escapan al tejido conectivo, la heparina actúa evitando la formación de fibrina,

- la que previene los coagulos de la misma en -
espacios intercelulares, también tiene acción depurado-
ra del plasma sanguineo.

La histamina es una amina, derivado del aminoáci-
do histidina y tiene un efecto vasoactivo, que dilata -
casi todos los capilares, la cual va a aumentar la permea-
bilidad capilar, además de su efecto sobre el tejido --
muscular visceral, al cual va a contraer.

La propiedad de tinción de los granulos depende del -
contenido de heparina en un 30 % del contenido total ;
la histamina un 10 % y la serotonina un 3 % .

Los granulos estan circundados por una membrana que -
consiste principalmente de ácidos y mucopolizacáridos
neutros en asociación con otras proteínas. Por lo tanto
son P. A. S. positivo y se tiñen con Azul Alcalino.

Los granulos no se demuestran con la tinción de Hemato-
xilina y Eosina, se tiñen metacromicamente con anilina
básica.

Con Azul de Metileno toman un color purpura.

Con Azul de Toluidina se tiñen de color rojizo purpura
y el Rojo Neutro los tinte supravitalmente a oscuro, ro-
jo ladrillo. (1 , 2 , 5 , 7 , 8 , 9)

O B J E T I V O S

OBJETIVO GENERAL : Estandarizar nuevas técnicas de tinción en el Laboratorio de - Histología y dejar colecciones de laminillas con estos métodos para una mejor enseñanza de la Histología.

OBJETIVOS PARTICULARES :

Estandarizar nuevas técnicas de tinción para la enseñanza práctica de la Histología.

Hacer acopio en el Departamento de Histología de reactivos, materiales y preparaciones necesarias para elaborar los nuevos métodos de - tinción para que en un momento dado, se puedan elaborar en cualquier momento teniendo el material preparado.

Dejar colecciones de laminillas para que se - puedan utilizar en las prácticas de Histolo-- gía.

Capacitar al personal técnico para que adquiriera práctica en el manejo, uso y preparación - de reactivos y materiales utilizados en los - nuevos métodos de tinción.

M A T E R I A L Y M E T O D O S

Este trabajo se realizó en el laboratorio de Histopatología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Guadalajara.

El material biológico se obtuvo en el area de necropsias -- de este mismo departamento de Patología; proveniente de caninos aparentemente sanos, sacrificados por sobredosis anestésica, utilizando Pentobarbital Sódico a una dosis de 1 ml -- por cada 2.5 kg de peso.

Las muestras tomadas se sometieron a fijación por un tiempo de 24 horas en formol al 10 %, se procesarán los tejidos en el histoquinete, después se incluyeron en parafina y se cortaron al microtomo; y se aplicaron a las muestras (tejidos) las técnicas de tinción especiales, las cuales fueron preparadas con materiales del mismo laboratorio.

METODOS ESPECIALES DE TINCION

METODO DE TINCION	TEJIDO	ESTRUCTURA A OBSERVAR
VERHOEFF	ARTERIA, TENDON	FIBRAS ELASTICAS
AZUL DE TOLUIDINA	PERITONEO, PIEL	CELULAS DE MAST
METODO DE JAMES	GANGLIO	FIBRAS RETICULARES

METODO DE VERHOEFF

(Para determinación de fibras Elásticas)

PROCEDIMIENTO :

- 1.- Desparafinizar los cortes y pasar al agua.
- 2.- Sumergir los cortes en la tinción para tejido elástico por 15 minutos a una hora o hasta que quede perfectamente negro. Checar después de 15 minutos, - que usualmente es un tiempo amplio. Enjuagar el exceso de colorante en agua destilada.
- 3.- Diferenciar en una solución acuosa de Cloruro Férrico al 2 %, esto requiere sólo unos pocos minutos. Los cortes deberan ser enjuagados rápidamente y checados con el microscópio a baja amplificación. Como - una guia para diferenciarlo, ver el tejido elástico dentro de arterias y grandes venas para determinar si las fibras elásticas han sido suficientemente de coloradas. El tejido elástico tiene la apariencia - torcida de una orquilla. El citoplásma debera ser - claro o solo ligeramente teñido.
Las fibras elásticas deberán aparecer negro claro - (si el tejido ha sido sobrediferenciado, la lamini-lla deberá ser regresada a la solución de tinción y reteñida). Cuando la diferenciación este completa, - enjuagar en agua.
- 4.- Pasar los cortes en alcohol al 95 % para remover el Iodo (opcional).
- 5.- Enjuagar rápidamente en agua destilada.

6.- Contrastar en la tinción de Van Giensón por unos - segundos o mas tiempo.

Meter la laminilla (usando un vaso de Koplín) has ta que se obtenga el color deseado. Controlar la tin ción con el microscópio.

La colágena deberá ser rojo brillante y el fondo a marillo. El colorante deberá ser recuperado y reuti- lizado.

7.- Deshidratar rápidamente en dos cambios de alcohol - de 95 %, seguidos de tres cambios de alcohol absolu to. Algunos de los de color amarillo (ácido pícrico) se perderán aquí.

8.- Limpiar en varios cambios de Xileno y montar en al- gún medio de montaje neutral.

RESULTADOS : Fibras Elásticas - Azul Negro a Negro
Núcleo - Azul a Negro
Fibras Colagenas - Rojo
Otros elementos del tejido - Amarillo

METODO DE VERHOEFF'S

(PREPARACION DE LOS REACTIVOS)

INDICACIONES. Tinciones de cortes de fibras Elásticas

FIJACION. Hellys, Zenker's o Formol al 10 % de preferencia.

TINCION DE TEJIDO ELASTICO

Hematoxilina 1 gr.

Alcohol Absoluto 50 ml.

Combinar en un matrás Erlenmeyer pequeño y disolver - la Hematoxilina con ayuda de flama baja. Filtrar y a--gregar en orden:

Cloruro Férrico, solución acuosa al 10 % 25 ml

Lugol de Yodo 25 ml

Después de la desparafinización no es necesario para--tratar los cortes fijados con Zenker's, formol al 10 % o Hellys, el uso de Iodo antes de la tinción, cualquier precipitado mercurial que pueda presentarse será -removido por la solución colorante.

Para mejores resultados la solución deberá ser utili--zada en las primeras 24 horas.

CLORURO FERRICO AL 10 %

Cloruro Férrico (granulos) 10 grs

Agua Destilada 100 ml

Pulverizar el Cloruro Férrico con un mortero y agregar agua.

CLORURO FERRICO AL 2 % (Solución de diferenciación)

Cloruro Férrico 20 ml

Agua Destilada 80 ml

METODO DE AZUL DE TOLUIDINA
(PREPARACION DE LOS REACTIVOS)

FIJACION . Formol - alcohol de preferencia, satisfactoriamente formol al 10 %.

Formol	10.0 ml
Alcohol	90.0 ml

SOLUCION .

Azul de Toluidina O (C. I. 52040)	.1 gr
Agua Destilada	100.0 ml

El pH deberá ser de 6.8 - 7.2 si no es posible con agua destilada hacer la tinción en un buffer, tal como Mc.Llvaine.

METODO DE AZUL DE TOLUIDINA

(Para la demostración de Células de Mast)

PROCEDIMIENTO :

- 1.- Desparafinizar e hidratar los cortes en agua.
- 2.- Teñir en Azul de Toluidina de 7 a 10 segundos, agitando suavemente.
- 3.- Enjuagar en agua destilada, sumergiendola una vez.
- 4.- Sumergir en alcohol al 95 % una vez.
- 5.- Deshidratar en alcohol absoluto, dos cambios de 4 - 6 pases. El isopropanol puede ser usado y el tiempo de deshidratación alargado.
- 6.- Deshidratar en alcohol absoluto, dos cambios de 10 pases cada uno.
- 7.- Xileno, dos cambios, en cada uno dos minutos y montar.

RESULTADOS :	Células de Mast	-	Purpura
	Citoplasma	-	Azul
	Núcleo	-	Azul
	Eritrocitos	-	Amarillos
	Fondo	-	Azul

METODO DE JAMES

(Para la observación de F. Reticulares)

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

SOLUCION .

1.- Permanganato Acidificado:

Permanganato de Potasio Acuoso 0.3 %

Acido Sulfúrico 0.3 %

2.- Acido Oxalico Acuoso al 5 %

3.- Nitrato de Plata Acuoso al 5 %

4.- Solución de Plata Amoniacal:

A 20 ml de Nitrato de Plata al 10 % ,
añadir (0.880) Amonio concentrado -
hasta disolver el precipitado, agregar
una gota de Nitrato de Plata acuoso -
al 10 % y 20 ml de agua destilada, fil
trar y la solución esta lista para u-
sarse.

- Mantener la solución en un lugar oscu
ro.

5.- Formol Acuoso al 5 %

6.- Tiosulfato de Sodio Acuoso al 5 %

METODO DE JAMES

(Para Fibras Reticulares)

PROCEDIMIENTO :

- 1.- Hidratar los cortes hasta el agua.
- 2.- Acidificar en Permanganato 5 minutos.
- 3.- Enjuagar 3 veces en agua destilada.
- 4.- En Acido Oxalico 5 minutos.
- 5.- Enjuagar 3 veces en agua destilada.
- 6.- En Nitrato de Plata 5 minutos.
- 7.- Enjuagar 3 veces en agua destilada.
- 8.- En Plata Amoniacal 5 minutos.
- 9.- Enjuagar 3 veces en agua destilada.
- 10.- Solución Formol 5 minutos.
- 11.- Enjuagar 3 veces en agua destilada.
- 12.- En Tiosulfato de Sodio 5 minutos.
- 13.- Lavar bien en agua corriente.
- 14.- Deshidratar, limpiar y montar.

RESULTADOS : Fibras Reticulares - Negras
Colágena - Amarilla o Cafe

R E S U L T A D O S

A la realización de las técnicas de tinción - propuestas se obtuvieron los resultados esperados para cada una de ellas.

Se elaborarán colecciones de algunos organos con diferentes técnicas, teniendo en cuenta que estas fueran específicas para el organo.

A continuación enumeramos los organos y técnicas Histológicas que se elaborarán:

TECNICA DE TINCION	OBJETIVO	ORGANO	# LAMINILLAS
AZUL DE TOLUIDINA	OBSERVACION DE MASTOCITOS	PIEL	20
		EPIPLON	14
		MESENTERIO	16
METODO DE JAMES	OBSERVACION DE FIBRAS RETICULARES	GANGLIO	15
TINCION DE VERHOEFF'S	OBSERVACION DE FIBRAS ELASTICAS	ARTERIA	50
		PABELLON	
		AURICULAR	25
		TENDON	25

Para elaborar la técnica de Azul de Toluidina - utilizamos organos con abundante tejido conectivo en el que localizamos con facilidad gran cantidad de Mastoci-

- tos, como el tejido celular subcutaneo en piel, epi--
plon y mesenterio.

La coloración que da esta técnica a las célu--
las de Mast es de un lila a purpura brillante en sus -
granulos y núcleo azul, con un fondo igualmente azul.

Para la técnica de James elegimos ganglios lin
faticos debido a su gran cantidad de fibras reticula--
res, observandose estas de un color negro como una pe--
queña gran red de finos hilos en un fondo amarillo --
claro a cafe.

Y por último la técnica de Verhoeff para fibras elásti
cas en la que vemos las fibras teñidas de un color ne
gro mezclado en un rojo de las fibras de colagena.

Para esta técnica elegimos organos con grandes cantida
des de elástina como arterias, pabellon auricular y ten
dones.

D I S C U S I O N

Debido a que el objetivo de la tesis es la producción de nuevo material didáctico para las prácticas de Histología, solo se discuten los problemas que se presentarán para poder estandarizar cada una de las técnicas.

Es común no obtener resultados inmediatos al realizar algunas técnicas Histológicas aún estando realizadas al pie de la letra del manual de técnicas.

Esto es debido principalmente a la pureza y concentración de los materiales empleados que muchas veces por tener bastante tiempo de almacenado, su efectividad disminuye y por lo tanto los resultados no son los esperados, así también los tejidos que teniendo características Histológicas particulares presentan reacciones diferentes tanto en la fijación como al proceso de tinción, y esto más un buen manejo de la técnica puede darnos paralatinamente los resultados deseados.

La primera técnica a estandarizar fué la técnica de Naoumenko & Feigin para la observación de fibras Reticulares, que se sugirió originalmente en el tema, y el primer problema que se nos presentó fué la falta y el alto costo del Cloruro de Oro, reactivo básico para esta técnica, por lo que se eligió otra en la cual hubiese en existencia el material en el Laboratorio de nuestra Facultad, y se decidió por el método de James.

Para la preparación de los reactivos de esta técnica tu vimos muchos problemas, ya que los materiales utilizados como el nitrato de Plata tenían mucho tiempo de almace-

- nado y su efectividad se vió disminuida por lo que se duplicó la cantidad del reactivo para equilibrar la efectividad del mismo; aparte de que no fué suficiente el material existente y tuvimos que conseguirlo en otro departamento de la Facultad.

Otro de los problemas se presentó en el momento de introducir los tejidos en la solución de Plata Amoniacal (esta solución fue preparada con Nitrato de Plata en envase de reciente adquisición),y permaneciendo en ella el tiempo indicado en la técnica,los tejidos se desprendían del portaobjetos debido a la gran alcalinidad de la solución de Plata Amoniacal,y para evitar esto disminuimos tiempos,lograndose los mismos resultados solo que después de aproximadamente 10 días la solución comenzó a precipitarse y perdió su efectividad,aún habiendose almacenado en frasco color ambar y en la oscuridad.

Al principio las fibras reticulares aparecían de un color negro y al utilizar la solución después de varios días, en algunas partes del tejido observabamos fibras y en otras no.

La técnica de Verhoeff no presentó grandes problemas en su preparación y desarrollo, en algunos pasos se experimentó variar los tiempos por cuestion de minutos, en unos aumentandolo y en otros disminuyendolo y posteriormente haciendo comparaciones con la técnica original y no observamos notables cambios en los resultados.

En el método de Azul de Toluidina solo se tuvo - que aumentar un poco mas de tiempo de lo que sugería la técnica. Esto fué porque la tinción era muy tenue y el contraste no era lo suficientemente claro.

Además que la técnica original incluía pases en Hematoxilina y Eosina, y se modifico eliminandolos, ya que los granulos de los mastocitos se coloreaban de rosa a lila y el contraste que daba la Eosina era del mismo color y dificultaba su identificación, así que con solo el Azul de Toluidina en la técnica se obtuvieron mejores resultados, haciendose más evidente la aparición e identificación de los " mastocitos " y sus granulos en el tejido.

C O N C L U S I O N E S

- Se logró la estandarización de las técnicas de tinción propuestas.
- Se consiguieron todos los reactivos necesarios para la elaboración de las técnicas de tinción.
- Se incrementó en 165 el número de laminillas - útiles para el material didáctico del Laboratorio de Histología.
- El personal técnico aumentó sus conocimientos en la preparación, uso y manejo de reactivos y colorantes en el Laboratorio de Histología.
- El alumno tendrá un mejor aprendizaje de la - Histología al observar de una forma más práctica las características de los tejidos por medio de las técnicas propuestas en los laboratorios de enseñanza.

S U M A R I O

Se estandarizarón las tres técnicas de tinción para lograr una mejor enseñanza práctica de la Histología.

Las técnicas estandarizadas fueron :

La técnica de Verhoeff para la observación de fibras Elásticas; Azul de Toluidina para la determinación de Mastocitos y el Metodo de James que es específico para fibras Reticulares.

Se elaborarán siete colecciones de laminillas de distintos tejidos, además de capacitar al personal técnico en cada una de las técnicas histológicas.

Y se dejarón soluciones útiles en el laboratorio para el desarrollo de estas técnicas.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Banks J. William.
Histología Veterinaria Aplicada.
Editorial Manual Moderno 1986
- 2.- Dellman Horst - Dieter.
Histología Veterinaria.
Lea & Febiger Philadelphia 1971
- 3.- Disbrey - Rack
Histological Laboratory Methods.
E & S Livingstone Edinburgh and London 1970
- 4.- Estrada Elvira
Manual de Técnicas Histológicas.
A.G.T. Editor S.A. México D.F. 1982
- 5.- Ham A. W. & Cormack D. H.
Tratado de Histología.
Editorial Interamericana. Octava Edición 1983
- 6.- Humason Gretchen L.
Animal Tissue Techniques.
W. H. Freeman & Company, San Fco. Cuarta Ed. 1979
- 7.- Junqueira L. C. , J. Carneiro.
Basic Histology.
Lange Medical Publications. Segunda Edición
Los Altos California 1977

- 8.- Leeson C. R. ,Leeson T. S.
Histología.
Editorial Interamericana. Tercera Edición 1977
- 9.- Maximow A. A. & Bloom.
Textbook of Histology.
W. B. Saunders Company. Cuarta Edición
Philadelphia 1942
- 10.-Preece Ann H. T.
A Manual for Histologic Technicians.
Little Brown & Company. Tercera Edición
Boston 1972
- 11.-Price Charles J.
P. A. O. Histología.
Herrero Hnos. México . Primera Edición 1974
- 12.-Spannhof Lwgwig.
Histoquímica Práctica.
Editorial Acribia. Primera Edición
España 1966