
 Govern de les Illes Balears Hospital Son Llàtzer	ANATOMIA PATOLOGICA	Nº: IT-75-APA-21D
		Rev.: A
		Página 1 de 16

Instrucción técnica Realización de técnicas histoquímicas

Modificaciones		
Revisión	Fecha	Descripción
A	15/07/09	Primera edición

Preparado	Revisado	Aprobado
Nombre: Magdalena García Bonafé Cargo: Jefe de Servicio A. Patológica Fecha: 15/07/09 Firma:	Nombre: Montserrat García Minguillán Cargo: Resp. Gestión de Procesos y U. de Calidad Fecha: 15/07/09 Firma:	Nombre: Luis Alegre Latorre Cargo: Director Gerente Fecha: 15/07/09 Firma:

El TEAP encargado de técnicas especiales mirará en el listado de microtomía las técnicas pendientes de realizar, comprobará si ya están los cristales preparados para ello y, si no

 Govern de les Illes Balears Hospital Son Llàtzer	ANATOMIA PATOLOGICA	Nº: IT-75-APA-21D
		Rev.: A
		Página 2 de 16

Instrucción técnica

Realización de técnicas histoquímicas

procederá a cortarlas, para la realización de las técnicas, las cuales se realizarán con control positivo para evaluación de la técnica. Para ello hay que seguir una serie de normas:

- . En las técnicas argénticas no utilizar objetos metálicos para su realización.
- . Antes de empezar revisar si se tienen todos los reactivos en condiciones.
- . Leer y seguir detalladamente los protocolos.
- . Limpiar bien los alcoholes especialmente en el Rojo Congo.

AZUL ALCIÁN

FIJACIÓN: Formalina neutra tamponada al 10%.

PROCEDIMIENTO:

1. Desparafinar e hidratar hasta llegar al agua destilada.
2. Ácido acético 3% durante 3 minutos.
3. Solución de Azul Alcían durante 45 minutos en estufa a 60 ° C.
4. Agua corriente en varios pases.
5. Hematoxilina de Harris durante 2 minutos.
6. Agua corriente en varios pases.
7. Deshidratar en alcoholes crecientes (70°, 96° y absoluto) durante 2 minutos.
8. Xilol durante 5 minutos.

SOLUCIONES:

SOLUCIÓN ÁCIDO ACÉTICO 3%

Ácido acético	3 ml
Agua destilada	97 ml

SOLUCIÓN AZUL ALCIÁN

Azul alcían	1 gr
Agua destilada	97 ml
Ácido acético	3 ml
Timol	1 cristal


- Disolver primero el azul alcían en agua destilada, una vez disuelto añadir el timol y esperar a su disolución. Filtrar la solución y posteriormente añadir el ácido acético.

RESULTADOS:

Mucina, células caliciformes y granelos de mastocitos	azul oscuro
Núcleos	rojo a rosado
Citoplasma	rosado pálido

AZUL ALCIÁN - PAS

FIJACION: Formalina neutra tamponada al 10%.

 Govern de les Illes Balears Hospital Son Llàtzer	ANATOMIA PATOLOGICA	Nº: IT-75-APA-21D
		Rev.: A
		Página 3 de 16

<h2 style="margin: 0;">Instrucción técnica</h2> <h3 style="margin: 0;">Realización de técnicas histoquímicas</h3>

PROCEDIMIENTO:

1. Desparafinar e hidratar hasta llegar al agua destilada.
2. Teñir con la solución de Azul Alcían durante 30 minutos.
3. Lavar en agua corriente durante 5 minutos.
4. Oxidar en la solución de ácido periódico 0.5 % durante 10 minutos.
5. Lavar en agua corriente.
6. Colocar en el reactivo de Schiff durante 5 minutos.
7. Lavar con agua corriente tibia durante 10 minutos.
8. Deshidratar en alcoholes crecientes (70º, 96º y absoluto) durante 2 minutos.
9. Xilol durante 5 minutos.
10. Montar con DPX.

SOLUCIONES:

SOLUCION ACIDO PERYÓDICO AL 0.5 %

Ácido periódico	0.5 g
Agua destilada	100 ml

REACTIVO DE SCHIFF	Comercial
--------------------	-----------

RESULTADOS:


Ácido hialurónico y mucina salivar	Azul
Polisacáridos y muínas neutras	Púrpura-rojo

GROCOTT

FIJACIÓN: Formalina neutra tamponada al 10 %.

PROCEDIMIENTO:

1. Desparafinar e hidratar hasta llegar al agua destilada.
2. Poner sobre el corte la solución A durante 20 minutos.
3. Lavar en agua destilada durante 2 minutos.
4. Poner sobre el corte la solución B durante 1 minuto.
5. Lavar en agua corriente.
6. Lavar en agua destilada dos veces durante 5 minutos.
7. Introducir en el contenedor 17 ml de agua destilada, 20 gotas del reactivo C, 10 gotas del reactivo D y 20 gotas del reactivo E.
8. Agitar bien la solución.
9. Colocar los cortes en el contenedor e incubar durante 50 minutos en estufa a 60 ° C (ES FUNDAMENTAL QUE LA ESTUFA ESTÉ A 60 ° C Y NO A MENOS).
10. Dejar enfriar durante 10 minutos.
11. Lavar dos veces en agua destilada durante 2 minutos.
12. Poner sobre el corte la solución F durante 3 minutos.
13. Lavar en agua destilada durante 2 minutos.
14. Poner sobre el corte la solución G durante 5 minutos.
15. Lavar en agua destilada durante 2 minutos.
16. Poner sobre el corte la solución H durante 30 segundos.

 <p>Govern de les Illes Balears Hospital Son Llàtzer</p>	<p>ANATOMIA PATOLOGICA</p>	Nº: IT-75-APA-21D
		Rev.: A
		Página 4 de 16

<p>Instrucción técnica Realización de técnicas histoquímicas</p>

17. Lavar en agua destilada durante 2 minutos.
18. Deshidratar en alcoholes crecientes (96º y absoluto) pasos rápidos para no perder el verde luz.
19. Xilol durante 5 minutos.
20. Montar con DPX.

SOLUCIONES:

- SOLUCIÓN A (comercial)
- SOLUCIÓN B (comercial)
- SOLUCIÓN C (comercial)
- SOLUCIÓN D (comercial)
- SOLUCIÓN E (comercial)
- SOLUCIÓN F (comercial)
- SOLUCIÓN G (comercial)
- SOLUCIÓN H (comercial)

RESULTADOS:

Hongos	Negro
Mucina	Gris oscuro
Fondo	Verde

TINCIÓN DE PERLS PARA EL HIERRO

FIJACION: Formalina neutra tamponada al 10%.

PROCEDIMIENTO:

1. Desparafinar e hidratar hasta llegar al agua destilada.
2. Poner la **SOLUCIÓN DE TRABAJO** de ferrocianuro de potasio durante 30 minutos.
3. Lavar con agua destilada.
4. Contrastar con Carmín de Mayer o con Rojo Nuclear durante 5 minutos.
5. Lavar bien con agua corriente durante 2 minutos.
6. Deshidratar con alcoholes crecientes (96º y absoluto) durante 2 minutos.
7. Xilol durante 5 minutos.
8. Montar con DPX.


SOLUCIONES:

SOLUCIÓN ÁCIDO CLORHÍDRICO 20 %

Ácido clorhídrico	20 ml
Agua destilada	80 ml

SOLUCIÓN FERROCIANURO DE POTASIO 10%

Ferrocianuro de potasio	10 gr
Agua destilada	100 ml

 <p>Govern de les Illes Balears Hospital Son Llàtzer</p>	<p>ANATOMIA PATOLOGICA</p>	Nº: IT-75-APA-21D
		Rev.: A
		Página 5 de 16

<p>Instrucción técnica Realización de técnicas histoquímicas</p>

SOLUCIÓN TRABAJO DE FERROCIANURO DE POTASIO

Ácido clorhídrico 20 %	50ml
Solución ferrocianuro de potasio	50 ml

SOLUCIÓN CARMIN DE MAYER

Ácido cármico	1 gr
Sulfato de aluminio y potasio	10 gr
Agua destilada	200 ml
Formol 40%	1 ml

SOLUCIÓN ROJO NUCLEAR

Rojo nuclear	0.1 gr
Solución sulfato aluminio 5%	100 ml
Llevar a hervor lentamente, enfriar y añadir 1 cristal de Timol.	

RESULTADOS:

Hemosiderina, algunos óxidos y sales de hierro	azul
Núcleos y citoplasma	rosa a rojo


MOVAT

FIJACIÓN: Formalina neutra tamponada al 10 %.

PROCEDIMIENTO:

1. Desparafinar e hidratar hasta llegar al agua destilada.
2. Poner el corte en solución de ácido peryódico durante 10 minutos.
3. Lavar en agua destilada en varios pases durante 10 minutos.
4. Poner los cortes en la **SOLUCIÓN ARGÉNTICA DE TRABAJO** en estufa a 60 ° C durante 40 minutos. (ES FUNDAMENTAL QUE LA ESTUFA ESTÉ A 60 ° C Y NO A MENOS). El corte debe tener un color "tabaco".
5. Lavar en agua destilada durante 2 minutos.
6. Poner sobre el corte la solución de tiosulfato sódico durante 5 minutos.
7. Sin lavar, decantar el cristal y poner la solución de acetona durante 5 minutos.
8. Lavar en agua destilada durante 2 minutos.
9. Poner sobre el corte la solución de hematoxilina de Harris durante 5 minutos.
10. Lavar en agua corriente durante 2 minutos.
11. Decolorar con alcohol-ácido al 1 % durante 10 segundos.
12. Lavar en agua corriente durante 2 minutos.
13. Poner sobre el corte la solución de eosina durante 10 minutos.
14. Lavar en agua corriente durante 2 minutos.
15. Deshidratar en alcoholes crecientes (96° y absoluto) durante 2 minutos.
16. Xilol durante 5 minutos.
17. Montar con DPX.

SOLUCIONES:

 Govern de les Illes Balears Hospital Son Llàtzer	ANATOMIA PATOLOGICA	Nº: IT-75-APA-21D
		Rev.: A
		Página 6 de 16

<h2>Instrucción técnica</h2> <h3>Realización de técnicas histoquímicas</h3>

SOLUCIÓN ARGÉNTICA

Hexametileutetramina(Metenamina) 3% (ha de conservarse en nevera)	
Hexametileutetramina	3 gr
Agua destilada	100 ml
Nitrato de plata 10 %	
Nitrato de plata	10 gr
Agua destilada	100 ml
Solución de borax 2 %	
Borax (tetraborato sódico)	2 gr
Agua destilada	100 ml

SOLUCIÓN ARGÉNTICA DE TRABAJO (DEBE SER SIEMPRE TRANSPARENTE)

Hexametileutetramina	80 ml	contenedor
Nitrato de plata	5 ml	8 ml
Agua destilada	5 ml	0.5 ml
Borax	10 ml	0.5 ml
		1 ml

SOLUCIÓN ÁCIDO PERYÓDICO 1 %

Ácido peryódico	1 gr
Agua destilada	100 ml

SOLUCIÓN TIOSULFATO SÓDICO 3 %

Tiosulfato sódico	3 gr
Agua destilada	100 ml

SOLUCIÓN ACETONA 10 %

Acetona	10 ml
Agua destilada	90 ml

SOLUCIÓN HEMATOXILINA DE HARRIS

Solución comercial de Merck


SOLUCIÓN ALCOHOL-ÁCIDO 1 %

Ácido clorhídrico	1 ml
Alcohol etílico 70 %	99 ml

SOLUCIÓN DE EOSINA

- SOLUCIÓN EOSINA MADRE

Eosina	10 gr
Agua destilada	200 ml
Alcohol 96 %	800 ml

 Govern de les Illes Balears Hospital Son Llàtzer	ANATOMIA PATOLOGICA	Nº: IT-75-APA-21D
		Rev.: A
		Página 7 de 16

<h2>Instrucción técnica</h2> <h3>Realización de técnicas histoquímicas</h3>

- SOLUCIÓN DE EOSINA DE TRABAJO

Eosina madre	500 ml
Alcohol 80 %	1500 ml
Ácido acético	10 ml

PAS

FIJACION: Formalina neutra tamponada al 10%.

PROCEDIMIENTO:

1. Desparafinar e hidratar hasta llegar al agua destilada.
2. Oxidar en la solución de ácido periódico 0.5 % durante 10 minutos.
3. Lavar en agua corriente.
4. Colocar en el reactivo de Schiff durante 20-30 minutos.
5. Lavar con agua corriente templada durante 5 minutos.
6. Contrastar con la solución de hematoxilina de Harris durante 1 minuto.
7. Lavar con agua corriente durante 5 minutos.
8. Diferenciar con alcohol ácido 1 % 10 segundos.
9. Lavar en agua corriente 2 minutos.
10. Deshidratar en alcoholes crecientes (70º, 96º y absoluto) durante 2 minutos.
11. Xilol durante 5 minutos.
12. Montar con DPX.

SOLUCIONES:

SOLUCION ACIDO PERYÓDICO AL 0.5 %

Ácido periódico	0.5 g
Agua destilada	100 ml

SOLUCION DE ACIDO CLORHIDRICO 1 %

Ácido clorhídrico	1 ml
Alcohol 70	100 ml

REACTIVO DE SCHIFF

SOLUCION DE HEMATOXILINA DE HARRIS


RESULTADOS:

Núcleos	Azul.
Glucógeno, mucina y algunas membranas basales	Rojo a púrpura.
Hongos	Rojo a púrpura.

GIEMSA

FIJACIÓN: Formalina neutra tamponada al 10%.

PROCEDIMIENTO:

 <p>Govern de les Illes Balears Hospital Son Llàtzer</p>	<p>ANATOMIA PATOLOGICA</p>	Nº: IT-75-APA-21D
		Rev.: A
		Página 8 de 16

<p>Instrucción técnica</p> <p>Realización de técnicas histoquímicas</p>
--

1. Desparafinar e hidratar hasta llegar al agua destilada.
2. Poner los cortes en la solución de Giemsa de trabajo 1 hora a temperatura ambiente.
3. Lavar con solución agua ácida durante 30 segundos.
4. Deshidratar en alcoholes crecientes (96º y absoluto) con pasos breves.
5. Xilol con pases breves y montar con DPX inmediatamente.

SOLUCIONES:

SOLUCIÓN GIEMSA DE TRABAJO

Giemsa	20 ml
Agua destilada	80 ml

SOLUCIÓN AGUA ÁCIDA

Ácido acético glacial	4 gotas
Agua destilada	100 ml

RESULTADOS:

Núcleos	Azul
Citoplasma	Rosa
Eritrocitos	Rojo

MUCICARMIN DE MAYER

FIJACION: Formalina neutra al 10 %


PROCEDIMIENTO:

1. Desparafinar e hidratar hasta llegar al agua destilada.
2. Colocar en la solución diaria de hematoxilina de hierro de Weigert durante 7 minutos.
3. Lavar brevemente con agua corriente.
4. Lavar con la solución diluida de alcohol ácido durante 1 minuto.
5. Lavar con agua corriente durante 10 minutos.
6. Teñir durante 30 minutos con la **SOLUCIÓN DE TRABAJO DEL MUCICARMIN** (esta se debe preparar en el día y después se ha de tirar).
7. Lavar rápidamente con agua destilada.
8. Contrastar con la solución de amarillo de metanilo durante 1 minuto.
9. Deshidratar en alcoholes crecientes (70º, 96º y absoluto) durante 2 minutos.
10. Xilol durante 5 minutos.
11. Montar con DPX.

SOLUCIONES:

SOLUCIÓN MADRE DEL MUCICARMIN

Carmín	1 gr.
--------	-------

 Govern de les Illes Balears Hospital Son Llàtzer	ANATOMIA PATOLOGICA	Nº: IT-75-APA-21D
		Rev.: A
		Página 9 de 16

<h2>Instrucción técnica</h2> <h3>Realización de técnicas histoquímicas</h3>

- | | |
|-----------------------|--------|
| Hidróxido de Aluminio | 1 gr. |
| Alcohol etílico 50 % | 100 ml |
- Poner los reactivos en una botella o matraz de 500 ml y agitar hasta su total disolución.
 - Agregar en pequeñas cantidades, poco a poco y agitando :
Cloruro de Aluminio Anhidro 0.5 gr.
 - Preparar un baño maría con agua a punto de ebullición.
 - Colocar el matraz en el baño, cuando empiece a hervir la solución dejar 3 minutos (no más).
 - Enfriar rápidamente con agua del grifo.
 - Cuando esté fría, filtrar y rotular.

SOLUCIÓN DE TRABAJO DEL MUCICARMIN

Solución madre del mucicarmin	1 parte
Agua destilada	9 partes

SOLUCIÓN DILUÍDA DE ALCOHOL-ÁCIDO

Alcohol ácido al 1%	10 ml
Agua destilada	90 ml

SOLUCIÓN AMARILLO DE METALINO

Amarillo de metalino	0.25 gr.
Agua destilada	100 ml
Ácido acético glacial	0.25 ml

SOLUCIÓN HEMATOXILINA DE WEIGERT (temporalmente usar la solución A y B del kit del Tricrómico de Masson).

Mezclar a partes iguales la solución A y B.

RESULTADOS:


Mucina	Rosado oscuro
Cápsula de criptococos	Rosado oscuro
Núcleos	Negro
Fondo	Amarillo

ORCEÍNA

FIJACIÓN: Formalina neutra tamponada al 10 %.

PROCEDIMIENTO:

1. Desparafinar e hidratar hasta llegar al agua destilada.
2. Poner la solución mordiente durante 5 minutos.
3. Decolorar con solución ácido oxálico durante 1 minuto.
4. Lavar en agua corriente durante 3 minutos.

 Govern de les Illes Balears Hospital Son Llàtzer	ANATOMIA PATOLOGICA	Nº: IT-75-APA-21D
		Rev.: A
		Página 10 de 16

<h2>Instrucción técnica</h2> <h3>Realización de técnicas histoquímicas</h3>

5. Lavar en agua destilada durante 3 minutos.
6. Poner en solución de orceína durante 30 minutos.
7. Deshidratar en alcoholes crecientes (96º y absoluto) durante 2 minutos.
8. Xilol durante 5 minutos.
9. Montar con DPX.

SOLUCIONES:

SOLUCIÓN MORDIENTE

Permanganato potásico	0.5 gr
Ácido sulfúrico 3%	5 ml
Agua destilada	95 ml

SOLUCIÓN DE ORCEINA

orceína	1 gr
Alcohol 70º	99 ml
Ácido clorhídrico	1 ml
pH de 1-2	

SOLUCIÓN DE ÁCIDO OXÁLICO

Ácido oxálico	2 gr
Agua destilada	100 ml

RESULTADOS:


Fibras y membranas elásticas Pardo Negruzco

PAS DIASTASA

FIJACION: Formalina neutra tamponada al 10%.

PROCEDIMIENTO:

1. Desparafinar e hidratar hasta llegar al agua destilada.
2. Colocar los cortes en solución diastasa (previamente puesta a temperatura ambiente) en estufa durante 45 minutos a 60º C.
3. Lavar en agua corriente durante 5 minutos.
4. Oxidar en la solución de ácido periódico 0.5% durante 10 minutos
5. Lavar en agua corriente durante 5 minutos.
6. Colocar en el reactivo de Schiff durante 20-30 minutos.
7. Lavar con agua corriente templada durante 5 minutos.
8. Contrastar con la solución de hematoxilina de Harris durante 1 minuto.
9. Lavar con agua corriente durante 5 minutos.
10. Diferenciar con alcohol ácido 1% 10 segundos.
11. Lavar en agua corriente 2 minutos.
12. Deshidratar en alcoholes crecientes (70º, 96º y absoluto) durante 2 minutos.
13. Xilol durante 5 minutos.

 Govern de les Illes Balears Hospital Son Llàtzer	ANATOMIA PATOLOGICA	Nº: IT-75-APA-21D
		Rev.: A
		Página 11 de 16

<h2>Instrucción técnica</h2> <h3>Realización de técnicas histoquímicas</h3>

14. Montar con DPX.

SOLUCIONES:

SOLUCION ACIDO PERYÓDICO AL 0.5%

Ácido periódico	0.5 gr
Agua destilada	100 ml

SOLUCION DE ACIDO CLORHIDRICO 1 %

Ácido clorhídrico	1 ml
Alcohol 70	100 ml

REACTIVO DE SCHIFF

SOLUCION DE HEMATOXILINA DE HARRIS

SOLUCIÓN FOSFATO ESTABILIZADORA pH 6.0

Cloruro de sodio	8 gr
Fosfato de sodio dibásico	0.28 gr
Fosfato de sodio monobásico	1.97 gr
Agua destilada	100 ml

SOLUCIÓN DIASTASA

Diastasa	0.1 gr
Solución fosfato estabilizadora	100 ml

RESULTADOS:


Núcleos	Azul
Mucina y algunas membranas basales	Rojo a púrpura
Hongos	Rojo a púrpura
Glucógeno	Sin color

TRICRÓMICO DE MASSON

FIJACIÓN: Formalina neutra tamponada al 10 %.

PROCEDIMIENTO:

1. Desparafinar e hidratar hasta llegar al agua destilada.
2. Mezclar en placa de petri la misma cantidad de gotas de la solución A que de la solución B, poner dicha mezcla sobre el corte durante 10 minutos.
3. Sin lavar, decantar el cristal y poner sobre el corte la solución C durante 4 minutos.
4. Lavar rápidamente en agua destilada dejando el corte de color amarillo, poner sobre el corte la solución D durante 4 minutos.
5. Lavar en agua destilada y poner sobre el corte la solución E durante 10 minutos.

 <p>Govern de les Illes Balears Hospital Son Llàtzer</p>	<p>ANATOMIA PATOLOGICA</p>	Nº: IT-75-APA-21D
		Rev.: A
		Página 12 de 16

Instrucción técnica

Realización de técnicas histoquímicas

6. Sin lavar, decantar el cristal y poner sobre el corte la solución F durante 20 minutos.
7. Lavar en agua destilada durante 2 minutos.
8. Deshidratar en alcoholes crecientes (96º y absoluto) con pasos muy rápidos para no perder el contraste del verde luz.
9. Xilol pases breves.
10. Montar con DPX rápidamente.

SOLUCIONES:

- SOLUCIÓN A (comercial)
- SOLUCIÓN B (comercial)
- SOLUCIÓN C (comercial)
- SOLUCIÓN D (comercial)
- SOLUCIÓN E (comercial)
- SOLUCIÓN F (comercial)

RESULTADOS:

Núcleos y gametos	Negro
Citoplasma, queratina y músculo	Rojo
Colágeno y moco	Verde
Eritrocitos	Amarillo

FIBRAS RETICULARES


FIJACIÓN: Formalina neutra tamponada al 10 %.

PROCEDIMIENTO:

1. Desparafinar e hidratar hasta llegar al agua destilada.
2. Mezclar en placa de petri la misma cantidad de gotas de la solución A que de la solución B, poner dicha mezcla sobre el corte durante 5 minutos.
3. Lavar en agua destilada durante 2 minutos.
4. Poner sobre el corte la solución C durante 3 minutos.
5. Lavar en agua destilada durante 2 minutos.
6. Poner sobre el corte la solución D durante 3 minutos.
7. Lavar dos veces en agua destilada durante 2 minutos.
8. Poner sobre el corte la solución E durante 3 minutos.
9. Lavar en agua destilada durante 2 minutos.
10. Poner sobre el corte la solución F durante 5 minutos.
11. Lavar en agua destilada durante 2 minutos.
12. Poner sobre el corte la solución G durante 5 minutos.
13. Lavar en agua corriente durante 5 minutos.
14. Deshidratar en alcoholes crecientes (96º y absoluto) durante 2 minutos.
15. Xilol durante 5 minutos.

SOLUCIONES:

- SOLUCIÓN A (comercial)

 Govern de les Illes Balears Hospital Son Llàtzer	ANATOMIA PATOLOGICA	Nº: IT-75-APA-21D
		Rev.: A
		Página 13 de 16

<h2>Instrucción técnica</h2> <h3>Realización de técnicas histoquímicas</h3>

SOLUCIÓN B (comercial)
 SOLUCIÓN C (comercial)
 SOLUCIÓN D (comercial)
 SOLUCIÓN E (comercial)
 SOLUCIÓN F (comercial)
 SOLUCIÓN G (comercial)

RESULTADOS:

Fibras reticulares y nerviosas	negro
Tejido conectivo	pardo
Colágeno	amarillo

GRAM

FIJACIÓN: Formalina neutra tamponada al 10 % o alcohol 96 ° para citologías

PROCEDIMIENTO:

1. Desparafinar e hidratar hasta llegar al agua destilada.
2. Solución Violeta de Metilo al 1 % durante 3 minutos.
3. Lavar con agua destilada.
4. Solución yodada de Gram durante 3 minutos.
5. Lavar con agua destilada.
6. Decolorar con acetona durante 10 segundos.
7. Lavar con agua destilada.
8. Solución Rojo Neutro al 1 % durante 2 minutos.
9. Lavar en agua destilada.
10. Deshidratar en alcoholes crecientes (96° y absoluto) durante 2 minutos.
11. Xilol durante 5 minutos.
12. Montar con DPX.

SOLUCIONES:

SOLUCIÓN VIOLETA DE METILO AL 1 %

Violeta de metilo	1 g
Agua destilada	100 ml


SOLUCION YODADA DE GRAM

Yodo	1 g
Yoduro potásico	2 g
Agua destilada	100 ml

SOLUCION ROJO NEUTRO AL 1 %

Rojo neutro	1 g
Agua destilada	100 ml

RESULTADOS:

 Govern de les Illes Balears Hospital Son Llàtzer	ANATOMIA PATOLOGICA	Nº: IT-75-APA-21D
		Rev.: A
		Página 14 de 16

<h2>Instrucción técnica</h2> <h3>Realización de técnicas histoquímicas</h3>

Gérmenes Gram +	Azul/Negro
Gérmenes Gram -	Rojo
Núcleos	Rojo

ROJO CONGO

FIJACIÓN: Formalina neutra tamponada al 10 %.

PROCEDIMIENTO:

1. Desparafinar e hidratar hasta llegar al agua destilada.
2. Colorear con una solución filtrada de Rojo Congo 1% durante 60 minutos.
4. Diferenciar en solución de hidróxido potásico al 0.2% durante 4 segundos.
5. Lavar con agua corriente durante 5 minutos.
6. Contrastar con la solución de hematoxilina de Harris durante 10 segundos.
7. Lavar con agua corriente durante 5 minutos.
8. Deshidratar en alcoholes crecientes (96º y absoluto) durante 2 minutos.
9. Xilol durante 5 minutos.
10. Montar con DPX.

SOLUCIONES:

SOLUCIÓN DEL ROJO CONGO AL 1%

Rojo Congo	1 gr
Agua destilada	100 ml

SOLUCIÓN DE HIDRÓXIDO DE POTASIO AL 0.2 %

Hidróxido de potasio	0.2 gr
Alcohol 80	100 ml

SOLUCIÓN DE HEMATOXILINA DE HARRIS

RESULTADOS:


Amiloide polarizada	rosado a rojo, y manzana verdoso bajo luz
Núcleos	azul

PLATA METENAMINA

FIJACIÓN: Formalina neutra tamponada al 10 %.

PROCEDIMIENTO:

1. Desparafinar e hidratar hasta llegar al agua destilada.
2. Poner sobre el corte la solución A durante 30 minutos.
3. Lavar en agua destilada durante 2 minutos.
4. Preparar una cámara húmeda.

 Govern de les Illes Balears Hospital Son Llàtzer	ANATOMIA PATOLOGICA	Nº: IT-75-APA-21D
		Rev.: A
		Página 15 de 16

<h2 style="margin: 0;">Instrucción técnica</h2> <h3 style="margin: 0;">Realización de técnicas histoquímicas</h3>

5. Mezclar 10 gotas de la solución B, 10 gotas de la solución C y 10 gotas de la solución D.
6. Agitar bien la solución.
7. Colocar los cristales en la cámara húmeda y poner la solución, incubando en estufa a 60 ° C durante 30 minutos.
8. Dejar enfriar durante 5-10 minutos.
9. Poner sobre el corte la solución E durante 1 minuto.
10. Lavar en agua destilada durante 2 minutos.
11. Poner sobre el corte la solución F durante 1 minuto.
12. Lavar en agua destilada durante 2 minutos.
13. Contrateñir con solución verde luz durante 20 segundos.
14. Lavar en agua destilada durante 2 minutos.
15. Deshidratar en alcoholes crecientes (96º y absoluto) con pases rápidos para no perder el verde luz.
16. Xilol durante 5 minutos
17. Montar con DPX.

SOLUCIONES:

SOLUCIÓN A (comercial)
 SOLUCIÓN B (comercial)
 SOLUCIÓN C (comercial)
 SOLUCIÓN D (comercial)
 SOLUCIÓN E (comercial)
 SOLUCIÓN F (comercial)
 SOLUCIÓN VERDE LUZ (comercial)

RESULTADOS:


Hongos	Negro
Fondo	Verde

ZIEHL NEELSEN

FIJACIÓN: Formalina neutra tamponada al 10 %.

PROCEDIMIENTO:

1. Desparafinar e hidratar hasta llegar al agua destilada.
2. Poner el corte en fucsina a temperatura ambiente 30 minutos.
3. Lavar en agua corriente durante 2 minutos.
4. Poner el corte en la solución de alcohol ácido al 1 % hasta que el corte no suelte colorante.
5. Lavar en agua corriente durante 2 minutos.
6. Poner el corte en la solución de azul de metileno de Merck durante 5 segundos.
7. Lavar en agua corriente durante 5 minutos.
8. Lavar en agua destilada.
9. Deshidratar en alcoholes crecientes (96º y absoluto) observando el corte que debe quedar con un tono azul pálido (para poder ver los bacilos).
10. Xilol durante 5 minutos.

 Govern de les Illes Balears Hospital Son Llàtzer	ANATOMIA PATOLOGICA	Nº: IT-75-APA-21D
		Rev.: A
		Página 16 de 16

Instrucción técnica

Realización de técnicas histoquímicas

11. Montar con DPX.

SOLUCIONES:

SOLUCIÓN DE FUCSINA (comercial)
SOLUCIÓN DE ALCOHOL ÁCIDO 1%
SOLUCIÓN AZUL DE METILENO (comercial)

RESULTADOS:

Núcleos	Azul
Bacilos de Koch	Rojo