



COLORANTES MÁS USADOS EN EL ESTUDIO DE ESTRUCTURAS TISULARES

Autoras: Marlen Llanes Torres¹. Galia Ibis Pérez Rumbaut². Zulema Mesa Montero³

¹Especialista en primer grado en Histología y MGI, Departamento Ciencias básicas biomédicas, Universidad Ciencias médicas Cienfuegos, Categoría Docente: Instructor, Dirección: avenida 30 edif 11 apto 5 Cienfuegos, Teléfono: 55853079, Email: mlltorres2014@gmail.com, ²Especialista en segundo grado en Histología. Universidad de Ciencias Médicas de Cienfuegos, Categoría Docente: Auxiliar, Dirección: Cienfuegos, Teléfono: 52450849. ³Especialista en primer grado en Histología y MGI, Universidad de Ciencias Médicas de Cienfuegos, Categoría Docente: Asistente, Dirección: Cienfuegos, Teléfono: 58788882

RESUMEN

Los colorantes son sustancias capaces de teñir muestras tisulares y otros materiales. Forman mezclas o reaccionan químicamente con las sustancias a teñir y les proporcionan un grado determinado de coloración. Desde la antigüedad se han utilizado con este fin diversas materias procedentes de vegetales y otras de origen animal. Los colorantes naturales se remontan en la época de los 80, pero es Van Leeuwenhoek en 1714, el primero en realizar una coloración, en donde pretendía observar fibras musculares estriadas, empleando una solución de azafrán en vino dando paso a la introducción del carmín y la hematoxilina. El objetivo de nuestro trabajo fue describir los colorantes más usados en el estudio de estructuras tisulares. La muestra coloreada debe su color a la capacidad de absorber parcial o totalmente la luz visible.

Palabras clave: Colorantes naturales, muestras tisulares, vegetales, animal, histología.

INTRODUCCIÓN

La histología definida como la ciencia de los tejidos orgánicos es comúnmente considerada una rama de la biología que estudia la estructura de los tejidos que constituyen las plantas y los animales. Aunque sus orígenes han sido atribuidos a Aristóteles, quien distinguió entre tejidos y órganos, la histología como una ciencia moderna avanzó hacia la observación y experimentación



con la invención del microscopio compuesto y el posterior desarrollo de los lentes de magnificación. Hoy en día, se hace referencia a la histología molecular gracias al avance de la microscopía y a las herramientas y técnicas moleculares como la hibridación *in situ*, que permiten observar los componentes celulares moleculares más pequeños; sin embargo, la técnica histoquímica continúa siendo la herramienta básica para el estudio de cualquier tejido u órgano (1).

El estudio microscópico de las características morfológicas de los tejidos, rutinariamente se circunscribe en el área de la histotecnología, la cual es definida por Mejías y Col, como aquella en la cual se emplea una serie de métodos y/o técnicas para que en función a lo que se desee observar, se opte por aquella técnica específica que destaque dicha estructura mediante el uso de uno o más colorantes. (2)

Es decir, “se hace necesario la interacción entre la célula y el cromóforo presente en el colorante, lo cual le da la potencialidad a este último, para ser categorizado como una sustancia de origen químico o biológico, pigmento o reactivo, empleado en la coloración de tejidos o microorganismos en exámenes microscópicos”. (3)

En virtud a las citadas características y de acuerdo con su origen, “los colorantes se clasifican en naturales y en sintéticos; siendo los naturales aquellos que proceden de tejidos animales o vegetales”, por ejemplo, el obtenido cuando las plantas verdes y algunos microorganismos que abundan en la superficie terrestre llevan a cabo un proceso llamado fotosíntesis; mientras que los sintéticos se obtienen por síntesis química de minerales procesados y manipulados en el laboratorio, por lo cual son de naturaleza orgánica, tienen una pureza superior que el de los naturales y comprenden una gran variedad de moléculas que se agrupan en porfirinas, flavonoides, antocianinas, quinonas, xantonas y carotenoides. (4-5)

Ahora bien, considerando que la finalidad de la tinción tisular es aumentar el contraste de las estructuras celulares mediante la adición de compuestos coloreados que tienen propiedades selectivas por determinadas zonas del tejido, es apreciable resaltar que no todos los colorantes de origen natural poseen las características deseadas en cuanto a factores como estabilidad a la luz y a la temperatura, pero destacan y se diferencian de muchos colorantes sintéticos por no ser tóxicos ni actuar como agentes carcinogénicos sobre el ser humano. (5)



Finalmente, no podemos dejar de nombrar los colorantes indiferentes, compuestos no iónicos incapaces de la disociación electrolítica. Son insolubles en agua, pero solubles en solventes orgánicos como el alcohol y también en las grasas o lípidos y, aunque ellos poseen color, en realidad no son colorantes. Basándose en que son solubles en las grasas, estas sustancias se utilizan para demostrar la presencia de ellas en células y tejidos, pues tiñen selectivamente a los lípidos. Los ejemplos son el sudan negro, el sudán III, el sudán IV y el rojo oleoso (6, 7).

En este trabajo, podemos encontrar información destacada de los tipos de colorantes y la importancia de los mismos. Enfatizando en el valor que se le debe dar a los colorantes naturales.

Objetivo:

1-Describir los colorantes más usados en el estudio de estructuras tisulares.

DESARROLLO

La mayoría de los tejidos, sobre todo los de los animales, son incoloros y por ello necesitamos teñirlos para observar sus características morfológicas. Las tinciones generales están basadas en el uso de colorantes, sustancias mediante las cuales se consigue colorear a los tejidos. Los colorantes son normalmente hidrosolubles y se caracterizan por unirse a ciertas moléculas presentes en los tejidos gracias a afinidades electro-químicas. Se utiliza normalmente para teñir a las células y componentes tisulares que van a ser observados con el microscopio óptico y por ello se realizan habitualmente sobre secciones de tejido, siendo las más utilizadas las secciones obtenidas a partir de inclusiones en parafina u obtenidas en criostato. (8).

El fundamento de la coloración radica en la propiedad que poseen todos los tejidos en incorporar y fijar sustancias coloreadas. La coloración se basa en la afinidad particular de ciertos tejidos o formaciones celulares por una sustancia colorante determinada (2).

Sería Leeuwenhoek (1714) quien empezara a experimentar con la coloración de especímenes para ser observados por el microscopio por medio de pigmentos obtenidos de plantas como el azafrán (safranina) y del árbol palo de Campeche (hematoxilina), o de animales como el escarabajo cochinilla (carmín)(1,4, 6).

Erhlich (Premio Nobel de Medicina en 1908) realizó su investigación de doctorado sobre la teoría y práctica de la tinción histológica, en la que clasificó



como basófilas, acidófilas y neutrófilas aquellas células que se coloreaban específicamente con colorantes básicos, ácidos o neutros respectivamente, explicando dicha especificidad mediante la presencia de los correspondientes grupos ionizables (6,8).

Los colorantes pueden actuar por dos medios, uno físico o adsorción y otro químico; por el medio químico el colorante se une a la sustancia coloreable combinándose con ella íntimamente debido a la presencia de agrupaciones moleculares ácidas o básicas en los componentes celulares o tisulares que se unen respectivamente a los cromógenos básicos y ácidos de los colorantes, formando sales insolubles, los que finalmente pueden ligarse por uniones covalentes, iónicas o puentes de hidrógeno⁵; así, los colorantes pueden ser ácidos, básicos o neutros. Los ácidos son sales cuya parte básica es incolora y el componente ácido posee color. Así, en la coloración con eosina o eosinato de sodio, la propiedad colorante se debe al ácido eosínico y no a la base, el sodio. Los colorantes ácidos tienen carga eléctrica negativa, por lo tanto, la designación correcta es la de colorantes aniónicos. También se les conoce como colorantes citoplasmáticos, pues tiñen al grupo químico, cargado eléctricamente, localizado en un extremo de la cadena de aminoácidos que integran las proteínas citoplasmáticas (6, 8).

Las sustancias que atraen eléctricamente a los colorantes ácidos se denominan "acidófilas" y químicamente están constituidas por componentes básicos o alcalinos. Por otro lado, los colorantes básicos son aquellas sales que poseen una base coloreada y una porción ácida incolora; por ejemplo, el azul de metileno o clorhidrato de azul de metileno, debe su propiedad colorante a la base "azul de metileno" y no al ácido clorhídrico que es incoloro. Poseen carga eléctrica positiva, por lo tanto, son colorantes catiónicos. Se les denomina también colorantes nucleares, pues tienen afinidad por los ácidos nucleicos (ADN y ARN). Las sustancias teñidas por los colorantes básicos se denominan "basófilas" y están constituidas por componentes ácidos (grupos fosfatos de los ácidos nucleicos, grupos sulfato de los glucosaminoglicanos y grupos carboxilo de las proteínas). La capacidad de reaccionar de las tinciones con los grupos aniónicos varía de acuerdo al pH, el cual influye en la ionización de estos últimos (6, 8).

Los colorantes ácidos de mayor uso son la eosina (habitualmente la de mayor empleo), la fucsina ácida, el ácido pícrico, el ácido azoico (cromotropo) y el ácido diazoico (azul y rojo de tripano).(6, 8)

De la misma forma, los colorantes básicos de mayor empleo son las anilinas metacromáticas (azul de metileno, azul de toluidina, azur A, rojo neutro y



verde de Janus) y la hematoxilina, siendo esta última la más usada y cuya propiedad colorante depende de la presencia en solución de la hemateína, un producto de su oxidación (6, 8).

Existen también colorantes neutros, los cuales son sales en las que tanto la parte básica como la parte ácida proporcionan color. Por ejemplo, el eosinato de azul de metileno o el eosinato de azul de metileno. Estos colorantes tienen la propiedad de teñir de manera simultánea, a los componentes nucleares y a los citoplasmáticos, inclusive pueden proporcionar colores distintos (metacromasia) a determinados componentes citoplasmáticos como las granulaciones específicas de los granulocitos (cierto tipo de leucocitos). Forman parte de las fórmulas colorantes para frotis de sangre como los colorantes de Wright, MayGrünwald, Giemsa y Leischman(6, 8).

Tipos de colorantes más usados y su fundamento.

Tinción hematoxilina-eosina

La tinción hematoxilina-eosina (H-E), el método de tinción más popular utilizado en investigación y medicina diagnóstica. El método supone la aplicación del colorante hematoxilina, que por ser catiónica o básica, tiñe estructuras ácidas (basófilas) en tonos azul y púrpura, como por ejemplo los núcleos celulares; y el uso de eosina que tiñe componentes básicos (acidófilas) en tonos de color rosa, gracias a su naturaleza aniónica o ácida, como el citoplasma (1,6, 8).

La hematoxilina es una sustancia cristalina incolora obtenida de una planta llamada *Haematoxylum Campechianum* (palo de campeche) de la familia de las cesalpiniáceas, del grupo de las leguminosas indígenas de la América Central y México. Esta sustancia por sí misma no es un colorante, fue introducida en la técnica histológica por un investigador llamado Waldeyer en 1863, quien la usó en la tinción de fibras nerviosas. Hasta entonces se habían utilizado otros colorantes como la rubia, el azafrán, el carmín, la mauveína y otros derivados de la anilina. (4)

La hematoxilina se convierte en colorante mediante su oxidación, proceso llamado maduración. La oxidación se obtiene con la permanencia prolongada al aire, más rápidamente, por medio de sustancias químicas oxidantes. El producto resultante de la oxidación de la hematoxilina se denomina hemateína. Esta última es la verdadera sustancia colorante, sin embargo, tampoco la hemateína colorea por sí misma a los tejidos, es un colorante indirecto, de allí el uso de mordientes. Desde el punto de vista histológico, la hematoxilina es un colorante básico o nuclear.



Tiñe de morado, negro, azul oscuro la sustancia nuclear. Desde el punto de vista químico se compone de un grupo llamado pyrocatecol, el cual es un núcleo de benceno con dos hidroxilos y otro grupo llamado pyrogalol el cual es también un benceno, pero con tres grupos hidroxilos. La hematoxilina es sin duda el mejor colorante nuclear.(4, 6)

La eosina (del griego *Eos*, amanecer) es un colorante acidófilo de presentación en polvo cristalino de color rojo. En la actualidad se emplean dos compuestos, la eosina Y o tetrabromofluoresceína, comúnmente conocida como eosina amarilla; y la eosina B o dibromodinitrofluoresceína, también conocida como eritrosina B azulada. Si bien pueden ser intercambiables sin que se noten las diferencias entre ellas en el resultado de la tinción, la eosina Y alcohólica de color amarillo es la más utilizada en procedimientos rutinarios histológicos, como tinción de contraste en la técnica de la hematoxilina-eosina (1, 6, 8). Basada en su polaridad negativa, la eosina es un compuesto ácido que le permite enlazarse con constituyentes celulares de carga positiva, de tal forma que tiñe organelas citoplasmáticas, fibra elástica, colágeno y fibras musculares. Los componentes que colorea la eosina son denominados acidófilos o eosinófilos⁶.

Coloración Giemsa:

Este método de coloración es el más utilizado para la tinción de frotis sanguíneo y cortes histopatológicos. La tinción de Giemsa fue ideada por el alemán Gustav Giemsa en 1904. Publicó un libro, en el que detallaba los procedimientos para teñir eucariotas flagelados, células sanguíneas y bacterias. Permite la observación diferencial del núcleo y el citoplasma celular. Esta tinción se emplea en organismos sin pared celular y eucariotas (con núcleo). (9)

Esta coloración permite diferenciar zonas con un alto contenido de ADN, específicamente uniones de Adenina-Timina, por tal motivo se puede distinguir perfectamente con el microscopio óptico el núcleo celular, los cromosomas durante la mitosis, y en algunos casos, el ADN mitocondrial. (9)

Esta tinción es de tipo Romanowsky, porque utiliza azul de metileno y sus productos de oxidación (azur A, B y C) como colorante básico y se combina con eosina, como colorante ácido, lo que da una amplia gama de colores. Con este método de coloración se puede observar ciertos componentes del citoplasma celular, vacuolas, gránulos y componentes como mucina y colágeno. (9) Las bacterias al tener su ADN en el citoplasma se tiñen de azul por completo. Otras estructuras celulares, cuyo pH no sea tan extremo como el ADN pueden adquirir coloraciones entre el azul y el púrpura. El pH del tinte



debe estar equilibrado entorno al 6,5 para que la tinción no esté descompensada. (9)

Coloración vital

Puede ser de dos tipos:

Coloración intravital, consiste en la administración de colorantes vitales a través de las vías digestiva o intratraqueal; mediante inyecciones sanguíneas, linfáticas, subcutánea, o intraperitoneal. Las soluciones de uso más frecuente son: **tinta china**, **carmin de litio**, **azul tripan** (partículas colorantes que demuestran la capacidad fagocítica).

Coloración supravital, En este procedimiento se emplean colorantes que se aplican a células o tejidos provenientes de organismos vivos. Se demuestran: *mitocondrias* con el **verde de Jano**, los *gránulos de las células cebadas* con el **rojo neutro**, la *sustancia granulofilamentosa de los reticulocitos* con el **azul brillante de cresyl**, *ramificaciones nerviosas* con el **azul de metileno**; o el *ADN* y el *ARN* de las células con **naranja de acridina** (empleando el microscopio de fluorescencia). (1-2)

Tinción PAS

La reacción del colorante PAS (del inglés *Periodic Acid-Schiff*, ácido periódico – reactivo de Schiff–) tiñe carbohidratos y macromoléculas compuestas por carbohidratos (glucosaminoglicanos y proteoglicanos), por tal razón, se emplea para detectar y describir el glucógeno de las células, las secreciones mucosas de varios tipos de células, la membrana basal de los epitelios, las fibras reticulares y el ácido hialurónico en el tejido conectivo⁶. De esta forma, los polisacáridos PAS positivos pueden ser mucopolisacáridos ácidos no sulfatados como las sialomucinas epiteliales; mucopolisacáridos ácidos sulfatados como las sulfomucinas epiteliales y glucosaminoglicanos del tejido conectivo; mucoproteínas y mucolípidos (6, 10).

La histoquímica de la reacción PAS se fundamenta en que el ácido periódico rompe la unión de los carbonos adyacentes (los grupos oxidrilos OH) de los anillos de las hexosas de los carbohidratos y las hexosaminas de los glucosaminoglicanos y forma grupos aldehído mediante la oxidación de los grupos glicólicos 1-2 de los polisacáridos, los cuales reaccionan con el reactivo de Schiff (fucsina básica que se trató con ácido sulfuroso para desaparecer el doble enlace existente en el centro de molécula de tal forma que resulta una sustancia incolora, el ácido sulfofucsínico), un colorante incoloro pero que se torna rojo al contacto con los grupos aldehídos (luego de aparecer de nuevo



el doble enlace que se comporta como el grupo cromóforo) para generar un color púrpura intenso bastante particular (6, 10).

En lo que respecta a la membrana basal y a la fibra reticular, el proceso ocurre bajo el mismo principio en los complejos de glucosaminoglicanos unidos a proteínas, denominados proteoglicanos. El reactivo de Schiff se prepara tratando fucsina básica, que contiene parafucsina (cloruro de triaminotriphenilmetano) con ácido sulfuroso. La parafucsina se transforma en un compuesto incoloro (ácido bis-N aminosulfónico o reactivo de Schiff), que luego es recoloreado por grupos aldehído que puedan estar presentes en los tejidos) (6, 10).

Tinción tricrómica de Masson

Esta técnica fue descrita por Masson en 1929 en un reporte titulado *Some histological methods. Trichrome stainings and their preliminary technique*, en el que realizó tinciones de tejido conectivo, resaltando la coloración azul del colágeno y la coloración roja de la fibra muscular del músculo esquelético (1, 6).

La tinción tricrómica de Masson, (TM) al igual que otros colorantes tricrómicos, es una tinción especial que permite visualizar claramente las fibras de colágeno tipo I que forman fibras gruesas o haces, diseñados para dar resistencia; también evidencia, aunque en menor intensidad, las fibras reticulares. Estos elementos poseen afinidad por los colorantes ácidos debido a la gran cantidad de grupos catiónicos de los aminoácidos que conforman las cadenas polipeptídicas. Se emplean tres colorantes para diferenciar el núcleo celular (hematoxilina férrica), el citoplasma (fucsina) y las fibras de colágeno (azul de anilina) (6).

En primer lugar, se tiñen los cortes con un reactivo ácido del tipo fucsina (escarlata de Biebrich) que colorea todos los elementos acidófilos del tejido como el citoplasma, el músculo y el colágeno. Posteriormente, los cortes se tratan con ácido fosfotúngstico y/o fosfomolibdico para que el tinte escarlata de Biebrich se diluya del colágeno, pero no del citoplasma. Los ácidos fosfotúngsticos y fosfomolibdicos tienen numerosos grupos ácidos que probablemente actúan como medio de unión entre el colágeno y el azul de anilina, que es el tinte afín al colágeno en un pH ácido. Luego se empleará la hematoxilina férrica de Weigert (que emplea cloruro férrico como oxidante) para teñir componentes basófilos especialmente del citoplasma. De esta forma las fibras de colágeno teñirán azul; el citoplasma y demás estructuras oxidadas teñirán de rojo y el núcleo teñirá de color lila o marrón (6, 10).



Coloración Warthin Starry

La tinción de Warthin-Starry (WS) es un método de tinción que está basado en nitrato de plata (una tinción de plata) usado en histopatología. Fue introducido por primera vez en 1920 por los patólogos estadounidenses Aldred Scott Warthin (1866-1931) y Allen Chronister Starry (1890-1973), para la identificación de espiroquetas. El nitrato de plata tiñe la Región organizadora Nucleolar (NOR por sus siglas en inglés) asociada a proteínas. Esto provoca una región oscura donde la plata se deposita, denotando la actividad de los genes de ARNr dentro de la NOR. Tiñe los 27 microorganismos de color marrón oscuro o negro con un fondo marrón dorado o amarillo dorado. (6)

Es considerado la mejor técnica de coloración para la detección de espiroquetas,

Helicobacter pylori, *Lawsonia intracellularis* y *Microsporidia*, debido a que la plata precipita sobre la membrana de los microorganismos, haciéndola parecer más gruesa y más fácil de identificar, además existe un claro contraste entre el ennegrecimiento de los bacilos y el amarillo-dorado de la mucina y células epiteliales. (10) La aplicación del método de coloración Warthin-Starry puede variar de acuerdo a la casa comercial que indica la preparación del reactivo o a las normas internas del laboratorio de Histopatología. (6)

Carmín

El carmín es un colorante natural obtenido de un insecto hemíptero llamado *Coccus cacti*, el cual vive en un tipo de planta mexicana denominada *Opuntia coccinellifera*. La sustancia colorante se obtiene de los cuerpos disecados de quermes hembras y de sus huevos, del cual se saca bajo la forma de carminato alcalino. En el comercio se presenta en forma de granos aplanados de color negro, rojo y gris. (11)

Se extrae de las cochinillas hembras secadas al calor. La sustancia colorante no posee carga eléctrica definida: si el pH es alcalino adquiere carga negativa, y positiva si el pH es inferior a 4, por lo tanto para coloraciones de los núcleos se utilizan soluciones ácidas, con lo cual se obtiene un color particularmente nítido y duradero. Este colorante fue utilizado por primera vez en 1849 por Goeppert y Cohn para colorear vegetales. En 1851, el zoólogo Corti lo usó para el teñido de tejidos animales. Es el mejor colorante para fragmentos grandes y tiñe muy bien los núcleos, pero no es muy bueno en cortes de parafina. Se usa en estudio de embriones, en general es bueno en anatomía microscópica. (11)



Brasilina

La brasilina es un colorante nuclear natural muy parecido a la hematoxilina. Se obtiene de unas plantas del Brasil, de allí su nombre. Las plantas de donde se extrae este colorante, se denominan brasilina (madera roja), solamente se encuentran en países tropicales es una leguminosa arborescente. La brasilina, toma un color rojo en solución cuando se expone al aire del cual toma oxígeno transformándose en brasileína. La brasileína es el verdadero colorante. Es un colorante indirecto y es necesario un mordiente. Ha reemplazado al carmín en el estudio de material fresco o fijado. (11)

Orceína

Barcat J. señala en su publicación "Orceína y Fibras Elásticas" 2003: La orceína es extraída de dos especies de líquenes, *Rocellatinctoria* y *Lecanora parella*, pertenece al grupo de los colorantes de oxazina. También está disponible en una forma sintética, pero la forma natural es preferida para el análisis de cromosomas, porque esto da un mejor contraste. También indica que la orceína tiñe cilindros, ejes, neuronas y neuroglia, útil para tinción nuclear y para tinción de inclusiones en el hígado, especialmente de antígenos de la hepatitis B. Tiñe fibras elásticas en tonos de marrón y negro. (11)

Safranina

Se utiliza como una de las manchas en la técnica de tinción de Gram, y tiñe los núcleos de las células de un color rojo, también se usa para la coloración de cartílagos en donde adopta un color amarillento. (4)

Cristal Violeta.

Se utiliza en la clasificación de las bacterias y es el tinte de elección para la técnica de tinción de Gram. Mancha de púrpura las paredes celulares cuando se combina con un mordiente. (4)

Verde Luz

Es un colorante muy soluble en agua que se utiliza en tinciones de tejidos conectivos. (2, 4)

Azul de metileno

Éste es el más valioso de los colorantes para los patólogos y bacteriólogos, ya que es usado en el diagnóstico de la difteria y, además, como colorante bacteriano. En histología se le emplea como colorante nuclear y, en combinación con la eosina, en la coloración del tejido sanguíneo. Se usa



además como colorante vital. Su mayor valor está en el hecho de que siendo un colorante básico sumamente enérgico no tiene tendencia a la sobre coloración, y ofrece propiedades metacromáticas muy pronunciadas, porque fácilmente se oxida y da lugar a los llamados *Azur de metileno*, *Azur A*, *Azur B*, y *Azur C*. Se usa en solución acuosa al 1 % o en solución hidroalcohólica. Se decolora en agua con ácido acético (12)

Azul cresil brillante

Valioso para ciertos trabajos por sus propiedades altamente metacromáticas. Su principal empleo es en la coloración de la sangre, para demostrar los corpúsculos reticulados. Es un colorante caro, por las dificultades que ofrece su manufactura y su escasa demanda comercial (12).

Azul de Toluidina

Colorante que tiñe estructuras basófilas, tales como la cromatina, sepuede comportar como colorante ortocromático tiñendo de color azul el tejido nervioso, o metacromático tiñendo de color violeta-rojo estructuras como el cartílago joven (4).

Tinción Argéntica.

Es una técnica frecuente de tinción en histología donde se utiliza para revelar detalles extremadamente finos. Es utilizada para teñir cortes histológicos. Este tipo de tinción es importante especialmente para revelar la ubicación de proteínas (por ejemplo, colágeno tipo III) y ADN. Es utilizada para demostrar ambos tipos de sustancia tanto dentro como fuera de la célula, es utilizada también en la electroforesis (12).

Colorante de Weigert.

Es una combinación de tinciones utilizadas en la histología que resulta útil en la identificación de fibras elásticas. Este se utiliza para teñir paredes de quistes de Pneumocistis, hongos y otras bacterias. Tiñe fibras elásticas en tonos de azul y violeta (12)

Violeta de genciana

Es un valioso colorante nuclear o cromático; principalmente usado en la triple coloración de Flemming (con orange G y safranina), y sobre todo es extremadamente valioso como colorante bacteriano en la técnica de Gram, en



la cual se asocia a una solución yodo-yodurada, que actúa como mordiente, y forma con el colorante, en el seno de los tejidos, una combinación yodada incapaz de ser disociada con el alcohol. Como quiera que no todas las estructuras retienen esta combinación, las que lo permiten se dice que toman el Gram, tal es el caso de algunas bacterias, los cromosomas de los núcleos en mitosis, etcétera, los cuales se manifiestan por su color azul oscuro. A las estructuras que decoloran con el alcohol se dice que son Gramnegativas (12) La violeta de genciana se emplea en solución acuosa o hidroalcohólica. Se prepara en solución fenicada, de manera similar al de la fucsina básica, pero añadiendo 2 g de ácido fénico en vez de 4 g.

Fucsina básica o anilina roja

Hay varios compuestos conocidos con este nombre. Es uno de los colorantes nucleares más enérgicos, con tendencia a la sobre-coloración, por lo que no resulta bueno, para los trabajos histológicos delicados. Es muy empleado en el diagnóstico de la tuberculosis. La fucsina básica decolora con el sulfito y es empleada en química como indicador para detectar aldehídos, ya que estos toman color rojo-violeta con este colorante. Igual empleo tiene en histología para determinar la presencia de aldehídos en el núcleo. (12)

En bacteriología se usa en solución fenicada semejante a la de la violeta de genciana. Esta solución se prepara triturando en un mortero 1 g de fucsina básica en 10 ce de alcohol de 90°, y cuando está bien disuelta se añade lentamente, y sin dejar de agitar, 4 g de ácido fénico. En el mortero se vierten varios centímetros cúbicos de agua destilada para arrastrar el colorante al echarlo en el frasco, el cual se completa el volumen de 100 ce. A las 24 horas se filtra la solución.

La fucsina básica se usa también en solución acuosa o hidroalcohólica. La coloración se obtiene en 15-20', y debe diferenciarse en alcohol absoluto. (12)

CONCLUSIONES

Los colorantes son usados fundamentales para el estudio de muestras en los laboratorios, hoy día, es más factible trabajar con los colorantes naturales porque los sintéticos son difícil de conseguir ya que tienden a ser productos importados y de alto costo, además los de origen natural brindan la posibilidad de innovar e investigar nuevas técnicas de coloración, usando otro tipo de fuente que no haya sido probada, también teniendo la posibilidad de hacer la extracción de manera artesanal, evitando así costos adicionales por la maquinaria.



REFERENCIAS

1. Gurina TS, Simms L. Histology, Staining. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021. [citado 10 de mayo 2021] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557663/>
2. Mejias M; Molist P; Pombal M. Atlas de histología vegetal y animal. Dialnet [Internet]. 2017 [citado 20 de abril 2021]; (90):[aprox. 76-77 p.]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6162319>
3. Gonzalez J; Gonzalez B; Barrial R. Laboratorio de Microbiología. Instrumentación y principios básicos. Ed Ciencias Médicas. [Internet]. La Habana 2018, p. 102. Disponible en: <https://www.rinconmedico.me/laboratorio-de-microbiologia-instrumentacion-y-principios-basicos-j-gonzalez-b-gonzalez-r-gonzalez/>
4. AVENDAÑO J. GUEVARA Y. HERRERA M. RAMOS M. USO DE COLORANTES NATURALES PARA EL ESTUDIO DE ESTRUCTURAS TISULARES. Univ. Carabobo. Trabajo Monográfico. 2016. Disponible en: <http://mriuc.bc.uc.edu.ve/bitstream/handle/123456789/5830/javenda%C3%B1o.pdf?sequence=1>
5. López J L, Hernández D M, Colín C C, Ortega P S, Cerón G, Cendejas F. Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. [Internet]. 2013. (Consulta 20 de marzo de 2018) Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/invdis/ir-2014/ir141b>
6. Salazar L, Moreno F. Comparación de tres tipos de tinciones histoquímicas en secciones histológicas de paladar y lengua de rata Wistar. *Salutem Scientia Spiritus* [Internet]. 2016; 2(2):12-23. Disponible en: <file:///C:/Users/oficina/AppData/Local/Temp/1556-Texto%20del%20artículo-4831-1-10-20170308.pdf>
7. Ulises Acuña JE. Histoquímica. *An Quím.* [Internet]. 2012; 108(2):114-118. Disponible en: <file:///C:/Users/oficina/AppData/Local/Temp/Dialnet-Histoquimica-3959325.pdf>
8. Ross MH, Pawlina W. Histología: texto y atlas color con biología celular y molecular. Quinta edición: Ed Méd Panamericana: México; 2010.
9. Contreras R. Tinción Giemsa. [Internet]. 2015 (citado 10 de marzo 2018). Disponible en: <http://biologia.laguia2000.com/tecnicas-en-biologia/tincion-giemsa>



10. Pérez G. Manual de Técnicas Histoquímicas. Anatomía patológica. Tercera ed. Rancagua-Chile: Editorial Médica Panamericana; 2015. Disponible en: <file:///C:/Users/oficina/AppData/Local/Temp/APA%201.3%20-%20Manual%20de%20Tecnicas%20Histoquimicas%20V3-2015.pdf>
- 11- Barcat J. A. Orceina y Fibras Elásticas, 2003. (Consulta 18 de marzo de 2018) Disponible en: <http://www.medicinabuenosaires.com/revistas/vol63-03/5/editorial-orceina.PDF>
12. De la Torre y Callejas SL. Manual básico de microtecnia biológica. Ed. Revolucionaria. Instituto Cubano del Libro. La Habana, 1975. pp. 115-122. (Consulta 20 de octubre de 2016). Disponible en: [https://www.ecured.cu/index.php?title=Anexo:Colorantes artificiales básicos&oldid=2710230](https://www.ecured.cu/index.php?title=Anexo:Colorantes_artificiales_básicos&oldid=2710230)