



SOCIEDAD ARGENTINA
DE HISTOTECNOLOGÍA:

ISSN 1669-2705
ISSN 1669-2713 (en línea)
Volumen 25 N°1 2014

Revista de la Sociedad Argentina de Histotecnología





MILESTONE
AYUDANDO A
LOS PACIENTES

Optimiza los
resultados
en biología
molecular



BoneSTATION

Sistema Avanzado de Fijación
y Decalcificación de Tejido Óseo.



 **Luis
Marsan**
www.luismarsan.com.ar



Índice



Staff

Editor

Ht. Vanina Tartalini

Comité Asesor

Dr. Biol. Hernán Aldana Marcos,

Ht. Cristina Chaves,

Prof. Dr. Boris Elsner,

Dr. Alberto Guidi,

Ht. Sara Orrea,

Ht. Norma Pozzo,

Ht. Marcelo Schultz,

TL. Víctor Tomasi,

Dra. Susana Vighi,

Ht. Rosa Villegas,

Ht. Gabriela Zarlavsky,

Producción Gráfica

Romina Ambrosini

romiambrosini@yahoo.com.ar

Editorial	4
Estado de Cuenta de la SAH	6
Diafanización	10
Metodología de la investigación:	16
Pósters ganadores en el XXI Congreso	23/24
Agenda	24
Soluciones Químicas a Problemas Histotecnológicos	28

La "Revista de la Sociedad Argentina de Histotecnología" publica artículos originales, revisiones, comunicaciones cortas relacionadas principalmente con los nuevos avances del campo de la histotecnología. Serán muy bien recibidos los manuscritos que traten sobre nuevas técnicas o modificaciones o mejoras de técnicas histológicas. También se incluirán temas de anatomía e histología de los tejidos y órganos y tópicos relacionados con la biología celular y molecular. En todos los trabajos se hará hincapié en los detalles de los procedimientos histotecnológicos. Uno de nuestros objetivos es la continua formación del histotecnólogo por lo tanto también serán aceptados para publicación artículos relacionados con la educación e historia.

Objetivos y alcance

COMISIÓN DIRECTIVA 2014/2016

Presidente:

Lucrecia López

Vicepresidente:

Jésica Gerbasi

Secretario General:

Alejandra Martínez

Secretario de Actas:

Agustina Asiain

Tesorero:

Diego Parenti

Secretario de Prensa y Difusión:

Vanina Tartalini

Vocales Titulares:

Romina García

Marisa Martínez

Flavia S. Contardo

Sabrina Roccati

Vocales Suplentes:

Marta Celia Rios

Julia Atea

Analía Zamarreño

Giorgina Mendoza

Personería Jurídica 1627388/96

Fundada el 11 de febrero de 1989

J. E. Uriburu 950, Piso 5°, (C1114AAD)

CABA Tel/Fax: (+54-11) 4961-6890

Web site: www.ht.org.ar

soc_argentina_histotecnologia@hotmail.com

Todos los derechos reservados.

Las notas científicas y los artículos de opinión publicados en esta revista, es total responsabilidad de sus autores.

FOTO DE TAPA: Autores: Jésica Romina Gerbasi, Fabricio Andrés Vigliano. Laboratorio de Histología y Embriología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario / CONICET. | **Técnica:** Diafanización - Tinción Azul Alcian/Rojo Alizarina. | **Descripción de la imagen:** Juvenil de pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) de 60 días posteclosión fijado in toto. Se observa fusión de los cuerpos vertebrales caudales que determinan una desviación de la columna vertebral hacia ventral. | **Diagnóstico:** Lordosis por fusión vertebral.



Editorial

Desde el 2012 tomamos el desafío de formar parte de la Comisión Directiva de la Sociedad. Ésta es nuestra segunda administración, con una comisión casi nueva en su totalidad, con poca experiencia pero con muchas ganas de poder hacer cosas nuevas.

Pasados ya 3 años, podríamos decir que concretamos muchos de nuestros objetivos, logramos incorporar nuevos socios y recuperar aquellos que estaban un poco alejados.

En el 2013 se concretó el XXI Congreso Argentino de Histotecnología con sede en la ciudad de Rosario. Fue un evento con muy buena asistencia desde otras provincias y para nuestra sorpresa, también de otros países como Venezuela, Chile y Brasil.

En el 2014 organizamos conjuntamente con la Cátedra de Patología de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Rosario, 6 seminarios teóricos- prácticos a los cuales asistieron histotecnólogos y alumnos de Rosario, Córdoba, Entre Ríos, Formosa y Buenos Aires.

Estamos trabajando junto al Ministerio de Salud de la Nación, el Instituto Nacional del Cáncer, la Sociedad Argentina de Patología y la Sociedad Argentina de Citología en el documento de tra-

bajo para la redacción de normativas de calidad para los servicios de patología.

Se imponen muchos agradecimientos:

- a Norma Pozzo por estar incondicionalmente siempre que la necesitamos,
- a Graciela Descalzo y Laura Pini por su gran colaboración en la organización de los seminarios,
- al Instituto Superior de Tecnología Médica (ISTM) por brindarnos sus instalaciones siempre que lo requerimos,
- a todos nuestros socios que confiaron en nosotros y participaron de las actividades que realizamos.

En el 2016 finalizaremos nuestro período, pero antes tendremos el XXII Congreso Argentino de Histotecnología, nuevamente con sede en la ciudad de Rosario, en el cual esperamos contar con la presencia de todos ustedes.

Como siempre, estamos abiertos a sugerencias, inquietudes y todo aporte que nos pueda ayudar a seguir haciendo las cosas un poquito mejor para todos. Esperamos seguir cumpliendo con todas sus expectativas día a día.

Saludos cordiales,
CD 2014-2016

Biopack

Productos Químicos



Seguridad y Limpieza

ABSORBENTE EN POLVO
OPTICLEANER®
R-WAX
REPELENTE DE PARAFINA
SULFOCLEAN®

Procesamiento de Tejidos

ALCOHOL ETILICO ABSOLUTO p.a.
ALCOHOL ETILICO ABSOLUTO Puro
AGUA DESMINERALIZADA p.a.
DESHIDRATANTE USO HISTOLOGICO
HISTOPLAST® PLUS (c/DMSO) PF 56-58 °C
HISTOPLAST® SINTETICO PF 56-58 °C
HISTOPLAST® PF 56-58 °C
PARAFINA PF 56-58 °C
PATHOCLEAR® PLUS
XILENO p.a.
XILENO Puro

Soluciones Fijadoras

FIJADOR DE CARNOY
FIJADOR DE SACCOMANO
FIJADOR DE ZENKER
FORMOL 10% V/V
FORMOL 40% (Est. con Metanol) p.a.
PATHOFIX® (Fijador Citológico)

Insumo para congelaciones

BIOFREEZ® (Spray Congelante)
CRYOPLAST®

INSUMOS Y REACTIVOS

Desparafinado, deshidratación e hidratación de cortes

ALCOHOL ETILICO ABSOLUTO p.a.
ALCOHOL ETILICO ABSOLUTO Puro
AGUA DESMINERALIZADA
DESHIDRATANTE USO HISTOLOGICO
PATHOCLEAR® PLUS (Sust.del Xileno)
XILENO p.a.
XILENO Puro

Soluciones descalcificantes

ACIDO FORMICO p.a. (85%)
ACIDO NITRICO 65% p.a. (A.C.S.)
FIJADOR DE BOUIN

Reactivos para tinciones en general

ALCOHOL ETILICO ABSOLUTO p.a.
ALCOHOL ETILICO ABSOLUTO Puro
AGUA DESMINERALIZADA p.a.
DESHIDRATANTE USO HISTOLOGICO
ACIDO ACETICO GLACIAL p.a.
ACIDO ACETICO GLACIAL Puro
ACIDO CLORHIDRICO p.a. (A.C.S.)

Montaje de preparados histológicos

BALSAMO DE CANADA (Natural)
BALSAMO DE CANADA (Sintético)

Tinciones especiales

COLORACION DE GRAM - HUCKER
COLORACION DE ZIEHL NEELSEN
GIEMSA (Solución)
MAY GRÜNWALD (Solución)
TRICROMICO DE GOMORI
TRICROMICO DE MASSON (AZUL DE ANILINA)
TRICROMICO DE MASSON (ESCARLATA FUCSINA ACIDA)
TRICROMICO DE MASSON (FAST GREEN FCF)
TRICROMICO DE MASSON (PONCEAU FUCSINA ACIDA)
TRICROMICO DE VAN GIESON

Tinciones de rutina de citología e histología

EA 36 s/PAPANICOLAOU (Solución)
EOSINA AMARILLENTO (Solución al 0,5% P/V)
HEMATOXILINA DE HARRIS Solución
HEMATOXILINA DE MAYER (Solución)
HEMATOXILINA FERRICA DE WEIGERT (Solución A)
HEMATOXILINA FERRICA DE WEIGERT (Solución B)
HEMATOXILINA s/ GILL (II) (Solución)
HEMATOXILINA s/ GILL (III) MODIFICADA (Solución)
OG 6 s/PAPANICOLAOU (Solución)

AREA HISTOTECNOLOGICA

Oficinas Comerciales:

Dirección: Av. Díaz Vélez 4562
Capital Federal - CP 1405 -
Argentina

Teléfono: +54 (11) 4958-1448
Fax: +54 0800-222-9520

Atención: 9-17 hs.



Your Chemical Support

Planta Industrial:

Dirección: Ruta 9 km. 105.5 -
Zárate - Bs.As - Argentina

Atención: 9-17 hs.

síto web: www.biopack.com.ar

e-mail: info@biopack.com.ar



TESORERÍA

Estimados colegas,
les recordamos que la cuota
anual es de \$350.-

FORMAS DE PAGO:

- En BANCO FRANCÉS, depósito en terminales

Depósito a cuenta de terceros Cta. Cte. N° 327/0301898/7

- TRANSFERENCIA BANCARIA Cuenta Corriente N° 327-20-301898 7 00

CBU: 01703274 20000030189876 CUIT: 30-68250030-8

Si usted tiene cuotas atrasadas, contáctese con soc_argentina_histotecnologia@hotmail.com
Notifique su pago via mail indicando los datos que figuran en el ticket
(N° de transacción, importe, sucursal) y no olvide incluir sus datos personales. De no recibir
la información, no se dará por sentado el pago efectuado ni se enviarán recibos de pago.

ESTADO DE CUENTA

ESTADO DE SITUACIÓN PATRIMONIAL AL 31 DE DICIEMBRE DE 2013 Y 2012

RECURSOS ORDINARIOS (En pesos)

DETALLE	PARA FINES GENERALES	PARA FINES ESPECÍFICOS	DIVERSOS	TOTALES
Ingresos cuotas asociados	15.150,00	-	-	15.150,00
Ingresos material de difusión	-	13.400,00	-	13.400,00
Ingresos cursos y congresos	-	53.950,00	-	53.950,00
Ingresos bonos contribución	-	-	-	-
Ingresos varios	-	-	-	-
Total al 31/12/2013	15.150,00	67.350,00	-	82.500,00
Total al 31/12/2012	14.199,00	8.800,00	-	22.999,00

Las notas que se acompañan forman parte integrante de este estado. Firmado a efectos de su identificación con mi informe del 15 de abril de 2014.

GASTOS GENERALES DE ADMINISTRACIÓN (En pesos)

DETALLE	2013	2012
Honorarios Administrativos, Contables, Profesionales y otros	4.900,00	3.440,00
Gastos varios para cursos y congresos	48.581,38	1.600,00
Fotocopias, Útiles y Librería	751,87	2.266,37
Sellados y Legalizaciones	1.696,40	200,00
Gastos Bancarios	2.697,40	2.573,51
Amortizaciones	2.606,74	2.781,18
Imprenta, Papelería, Publicaciones y Material de Difusión	5.973,19	5.732,31
Viáticos y Movilidad	16.764,47	1.450,91
Franqueo y encomiendas	297,00	1.169,50
Gastos computadoras	-	-
Abonos por servicios	-	-
Gastos generales	454,00	895,00
Mantenimiento y equipamiento	-	-
Gastos generales de Administración	-	-
Gastos Específicos de sectores	-	-
Teléfono	1.006,56	856,86
Impuesto a las Ganancias	-	232,11
Multas e Intereses	-	437,14
TOTAL	85.729,01	23.634,89

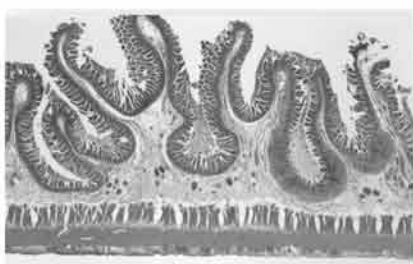
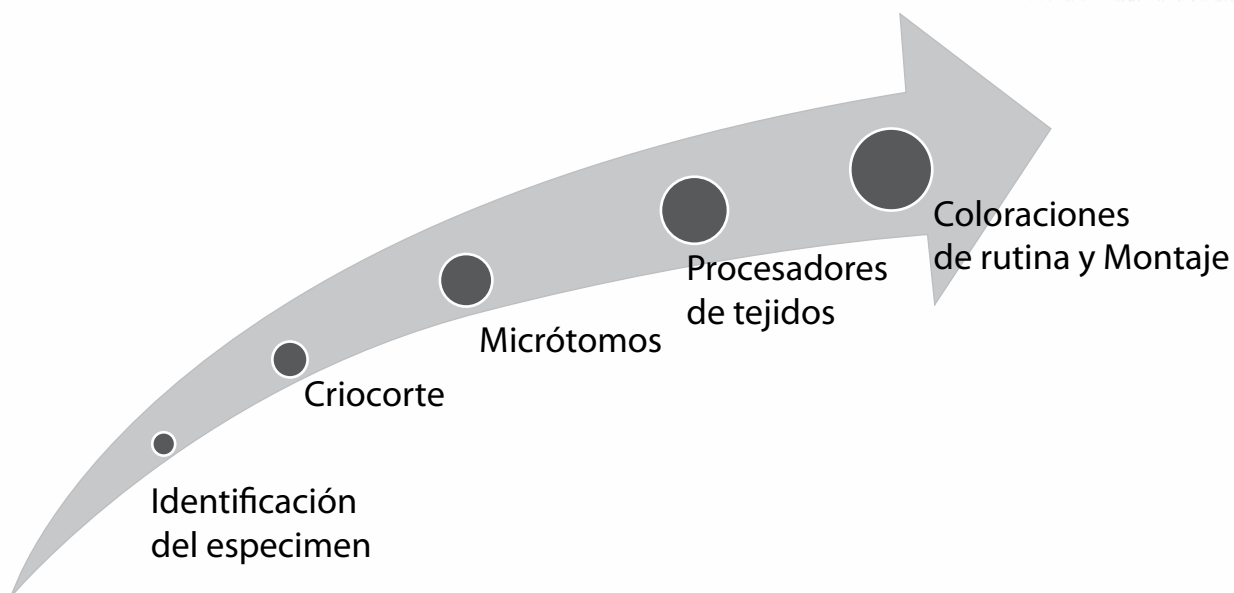
INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

Remisión de artículos
para la Revista.

Los artículos podrán ser enviados
al editor vía mail: soc_argentina_histotecnologia@hotmail.com

Todas las páginas llevarán una
numeración correlativa en el ángulo inferior derecho, comenzando por la página del título e incluyendo tablas y figuras. La primera página incluirá el título del trabajo que será breve pero informativo: nombre y primer apellido de cada autor; nombre del departamento/s e institución/es donde se ha realizado el trabajo; dirección postal y dirección de mail del autor responsable de la correspondencia relativa al trabajo. En lo posible los trabajos deberán dividirse en apartados. Los originales deben incluir Introducción, Material y métodos, Resultados, Discusión y Bibliografía. Las Revisiones deben incluir, por lo menos, Introducción, Conclusiones y Bibliografía.

Las instrucciones están disponibles en www.ht.org.ar/publicaciones



Biopack

Productos Químicos



Pathoclear® Plus

Sustituto válido del Xileno. Totalmente inodoro.
Mejora la manipulación en lugares
poco ventilados o que no cuentan con campanas extractoras de gases.



Código	Descripción	Presentación
2000953808	Pathoclear® Plus	1 000 mL
2000953809	Pathoclear® Plus	5 L

No regulado como precursor

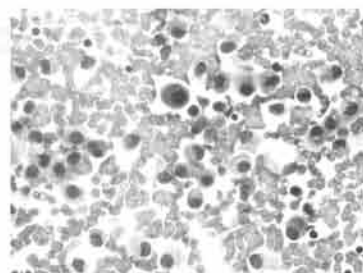
Color Fast® kit

El Color Fast® es un kit de 3 componentes para realizar tinciones
de extendidos citológicos y sanguíneos.

Código	Descripción	Presentación
2000111506	Color Fast® kit	3 x 250 mL



Citología de lavado peritoneal con buena diferenciación (10X)



Citología de lavado peritoneal con buena diferenciación (40X)

Vea el Video de la Técnica en nuestro Canal de Youtube

Your Chemical Support

Oficinas Comerciales:

Dirección: Av. Díaz Vélez 4562
Capital Federal - CP 1405 -
Argentina

Teléfono: +54 (11) 4958-1448
Fax: +54 0800-222-9520



Absorbente en Polvo

Para líquidos derramados. Inerte a todos los ácidos fuertes, con excepción del Ácido Fluorhídrico.
Inerte a los solventes comunes del Laboratorio.

Código	Descripción	Presentación
2000958308	Absorbente en Polvo	1 000 g
2000958309	Absorbente en Polvo	5 Kg

Opticleaner®

Solución limpiadora para vidrios ópticos de microscopios, objetivos y oculares.

Código	Descripción	Presentación
2000086405	Opticleaner®	90 mL

R-Wax

Limpiador de Parafina en Aerosol. Para la correcta limpieza y mantenimiento de su micrótopo. Ideal para limpiar equipamiento, instrumental, mesadas de trabajo, impregnadas con restos de parafina.

Código	Descripción	Presentación
2000945005	R-Wax	120 mL

Sulfoclean®

Solución limpiadora de material de vidrio, sin trióxido de cromo.
Sustituto válido de la Mezcla Sulfocrómica.

Código	Descripción	Presentación
2000203108	Sulfoclean®	1 000 mL

Repelente de Parafina

Para la correcta limpieza y mantenimiento de su micrótopo.

Código	Descripción	Presentación
2000948405	Repelente de Parafina	120 mL



www.biopack.com.ar

Planta Industrial:

Dirección: Ruta 9 km. 105.5 -
Zárate - Bs.As - Argentina

sitio web: www.biopack.com.ar
e-mail: info@biopack.com.ar



Diafanización:

Una técnica que permite la visualización diferencial de cartílago y hueso para el estudio del desarrollo y malformaciones en peces.

María Florencia Piovesana¹, Jéssica Romina Gerbasi², Fabricio Andrés Vigliano^{3,4}

¹ Becaria de investigación del Programa de Becas de Promoción y Actividades Científicas y Tecnológicas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario.

² Instituto de Histopatología, Montevideo 1788, Rosario. En el año 2013 se desempeñó como técnica en el Laboratorio de Histología e Inmunohistoquímica, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario.

³ Cátedra de Histología I y Embriología Básica / Centro de Investigaciones en Piscicultura Experimental, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario. Bv. Ovidio Lagos y Ruta 33 (2170) Casilda, Santa Fe.

⁴ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Correspondencia a: M. F. Piovesana piove_13@hotmail.com



RESUMEN: En este artículo técnico describimos los resultados de nuestra experiencia en el desarrollo y optimización de la técnica de diafanización seguida de coloración diferencial de cartílago y hueso en ejemplares de peces autóctonos. Debido a que no se requieren equipamientos complejos, la técnica puede ser desarrollada en cualquier laboratorio de Histología o Embriología. Es de gran aplicación para el estudio del desarrollo esquelético en embriones o neonatos de cualquier especie animal, representando además una técnica que complementa la formación de los histotecnólogos ampliando su campo laboral.

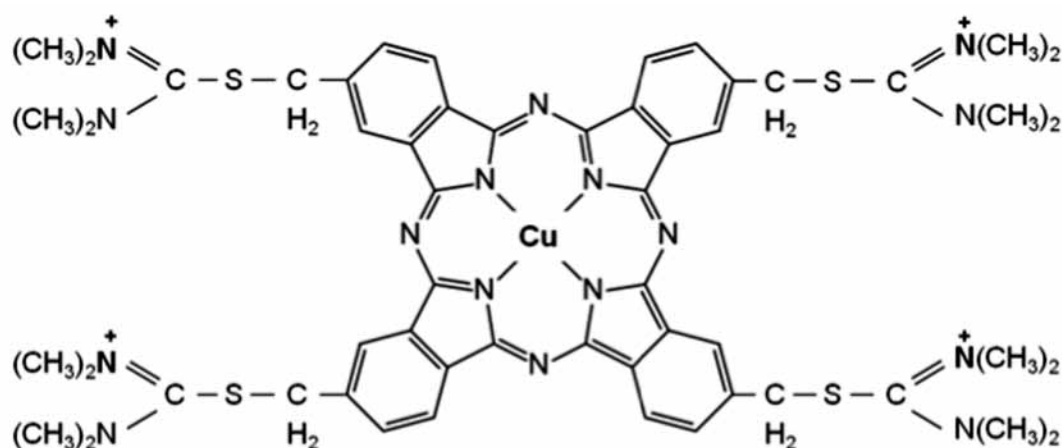
INTRODUCCIÓN: La técnica de diafanización de organismos vivos fijados consiste en la transparentización de los mismos para permitir observar estructuras internas. Fue descrita hace más de un siglo por Mall en embriones humanos como una técnica alternativa para el estudio de los centros de osificación (Mall, 1902). Posteriormente, en investigaciones sobre el desarrollo de miembros torácicos y pelvianos de ratas albinas, Dawson introduce el empleo del rojo alizarin para colorear selectivamente el tejido óseo (Dawson, 1926). En 1985, Taylor y Van Dyke describen en peces un protocolo optimizado para la doble tinción simultánea del tejido cartilaginoso con azul Alcian y del tejido óseo con rojo alizarin (Taylor y Van Dyke, 1985). Los resultados obtenidos mediante esta técnica pueden observarse en la foto de portada de esta revista, así como en las figuras 3b a 3d.

La diafanización, junto con la tinción de azul Alcian y rojo alizarin, son muy útiles para la observación del esqueleto cartilaginoso y óseo en los peces teleósteos en las semanas posteriores a la eclosión que están desarrollando su estructura ósea, ya que a esta edad no pueden emplearse otras técnicas como la radiografía debido al pequeño tamaño de los ejemplares y la nula o escasa mineralización del tejido óseo (Boglione y col, 2013).

En el Centro de Investigaciones en Piscicultura Experimental estamos validando tecnologías para el cultivo de especies de peces autóctonas, entre ellas la triploidización de ejemplares de bagre sudamericano (*Rhamdia quelen*). En estudios recientes, determinamos que las larvas triploides obtenidas por choques térmicos de agua fría presentaron alta incidencia de malformaciones (Alaniz y col., 2013). Por ello, actualmente estamos empleando la técnica de diafanización para determinar que eventos generan estas alteraciones en la estructura oseocartilaginosa. Además, la utilizamos en nuestro laboratorio para evaluar la incidencia de malformaciones óseas en la columna vertebral y complejo caudal de pejerreyes sometidos a condiciones de larvicultura intensiva.

Brevemente, la técnica consiste en teñir los ejemplares de larvas o alevines con una solución ácida de azul Alcian, siendo seguidamente neutralizados en etanol absoluto. Posteriormente se transparentizan macerándolos en soluciones de hidróxido de potasio (K(OH)) a distintas concentraciones. Una vez transparentes los peces son teñidos con una solución alcalina de rojo alizarin y sumergidos en solución de Mall para finalizar la diafanización. Previo a su almacenamiento en glicerina pura, se los transfiere por soluciones de concentración creciente de glicerina en K(OH).

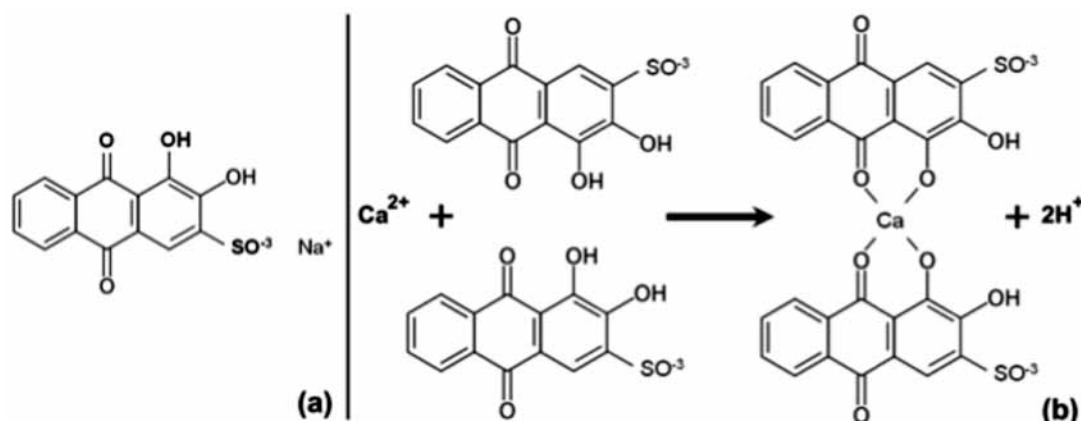
PRINCIPIOS HISTOQUÍMICOS DE LA COLORACIÓN: El azul Alcian es un colorante catiónico sintético derivado de la ftalocianina caracterizado por poseer hasta cuatro grupos tetrametilisotiouuronio, cada uno ubicado en cada anillo benzoico de la molécula de ftalocianina de cobre (Figura 1). Estos grupos tetrametilisotiouuronio son los responsables de las cargas positivas del colorante que determinan una elevada afinidad por moléculas polianiónicas como los glucosaminoglucanos sulfatados y carboxilados presentes en la matriz del tejido cartilaginoso (Scott y col., 1964).



ARRIBA: Figura 1. Fórmula estructural del azul Alcian. En negrita se indican las cargas positivas de los átomos de N en los grupos tetrametilisotiuronio, responsables de la interacción electrostática de este colorante con los polianiones.

El rojo alizarin es un colorante sintético, soluble en agua, derivado de la antroquinona y comercializado en forma de sales de alizarin sulfonato de sodio (Figura 2a). Una de las posibles hipótesis sobre la unión entre el calcio de los huesos y el colorante postula que la fijación específica del rojo alizarin al calcio se produce por quelación de una molécula de calcio mediante dos moléculas de rojo alizarin (Kiernan, 1990). Esto ocurriría porque las moléculas de oxígeno presentes en los grupos quinona y fenol del colorante (Figura 2a) se comportan como dadores de electrones y establecen con el calcio dos anillos estables (Figura 2b). Este mecanismo de quelación podría ocurrir con otros cationes divalentes como el magnesio o el hierro pero debido a la baja concentración de los mismos en comparación con los iones de calcio en hueso no interferirían en la especificidad de la reacción.

ABAJO: Figura 2. a. Fórmula estructural del rojo alizarin. En negrita se indican los átomos de oxígeno de los grupos quinona (anillo central) y fenol (anillo derecho) que participan en la reacción de quelación del calcio representada en la reacción de la figura 2b. También se muestra en negrita el grupo sulfonato. b. Reacción de quelación propuesta por Kiernan (1990) en la que dos moléculas de rojo alizarin se unen a un átomo de calcio liberando dos protones.



Lievremont y col. (1982) plantean una hipótesis alternativa de la unión entre el calcio y el colorante ya que determinaron *in vitro* que el mayor nivel de complejos ion-colorante precipitados se obtenía con una relación entre estos de 1:1, es decir que a cada molécula de calcio se le une una molécula de rojo alizarin.

Por ello, estos autores sugieren que la unión con el calcio se produce a través del residuo hidroxilo del grupo fenol y el grupo sulfonato

de la molécula de colorante (Figura 2a) (Lievremont y col., 1982). La reacción óptima de unión del rojo alizarin con el calcio se produce en un rango de pH de 4 a 8 (Lievremont y col., 1982). Por ello, teniendo en cuenta que el calcio de los huesos se solubiliza a pH ácido (que puede producir una pérdida de este ión en los huesos), resulta conveniente preparar la solución de rojo alizarin a un pH alcalino para evitar la descalcificación en las estructuras óseas.

EQUIPAMIENTO, INSUMOS Y REACTIVOS NECESARIOS PARA EL DESARROLLO DE LA TÉCNICA.

Para la realización de la presente técnica se requiere un microscopio estereoscópico, cassettes de biopsias y microbiopsias, viales de plástico, pipetas Pasteur, frascos de boca ancha con tapa, hojas de bisturí, material de laboratorio para preparación de distintas soluciones y guantes de látex. Entre los reactivos y colorantes son necesarios: etanol absoluto, hidróxido de potasio, glicerina, ácido acético, azul Alcian, rojo alizarin y peróxido de hidrógeno.

SOLUCIONES UTILIZADAS

A. Solución ácida de azul Alcian

Etanol 96° 80 ml
Ácido acético 20 ml
Azul Alcian 15 mg
Se conserva a 4° C hasta por 3 meses.

B. Hidróxido de potasio

Se deben preparar soluciones a diferentes concentraciones (5%, 3%, 1% y 0.5%).

Por ser el K(OH) un sólido higroscópico recordar que se debe tapar bien.

C. Solución de rojo alizarin

Inicialmente se debe preparar una solución de stock (SSRA), de acuerdo a lo siguiente:

Rojo alizarin 1 g
K(OH) 0.5% 100 ml
Se filtra antes de conservar.

Luego debemos preparar la solución de trabajo de rojo alizarin, la cual se obtiene con:

SSRA 2 ml
K(OH) 1% 100 ml

D. Solución de Mall

Agua destilada 79 ml
Glicerina 20 ml
K(OH) 1 g
H₂O₂ 50 µl

Esta solución de Mall se encuentra al 1%. También puede prepararse al 3% agregando 2 g más de K(OH) a la solución, es decir en total 3 g.

E. Glicerina / K(OH)

Se deben preparar tres soluciones de concentración creciente de glicerina en K(OH) 0.5%. Las proporciones son las siguientes:

- 1:3 (25 ml de glicerina + 75 ml de K(OH) 0.5%)
- 1:1 (50 ml de glicerina + 50 ml de K(OH) 0.5%)
- 3:1 (75 ml de glicerina + 25 ml de K(OH) 0.5%)

DESARROLLO DE LA TÉCNICA DE DIAFANIZACIÓN

A continuación se describe la técnica para la transparentización de larvas de peces y la coloración del cartílago mediante la uti-

lización de azul Alcian y del hueso por rojo alizarin, siguiendo la técnica de Taylor y Van Dyke (1985), introduciendo algunas mejoras publicadas por Gavaia y col. (1999) e indicando algunas sugerencias de acuerdo a nuestra experiencia. Las larvas y alevines de pejerrey y bagre sudamericano que rutinariamente se procesan para esta técnica en nuestro laboratorio miden entre 6 y 20 mm de longitud estándar, aunque hemos realizado la diafanización de ejemplares juveniles de hasta 50 mm.

Todas las incubaciones se realizan sumergiendo los ejemplares en cada solución. Si procesamos muestras individuales los peces pueden colocarse en viales plásticos de 1,5 ml tipo Eppendorf. Si por el contrario se deben procesar lotes de peces, podemos colocarlos en cassettes de biopsias o microbiopsias, dependiendo de su tamaño, a los fines de facilitar el procesamiento (Figura 3a). En este caso los cassettes se sumergen en las soluciones colocadas en frascos de boca ancha.

1º) FIJACIÓN.

Previo a la fijación en formol tamponado al 10%, se deben eutanasiar los ejemplares por sobredosis anestésica de acuerdo a las normativas y protocolos internacionales de bienestar animal. Las muestras pueden fijarse de 24 a 72 hs dependiendo del tamaño del animal y luego se transfieren a etanol 70% hasta colorear (pueden almacenarse años).

2º) TINCIÓN DEL CARTÍLAGO.

Colocar los ejemplares en solución ácida de azul Alcian durante 30 minutos. Terminada la coloración se lavan los ejemplares con agua destilada para barrer el exceso de colorante. Si bien distintos autores sugieren variar el tiempo de coloración de acuerdo al tamaño del ejemplar hasta que el cartílago se vea bien teñido, en nuestra experiencia esto es de difícil realización, ya que una vez sumergidas en esta solución la piel de los peces se colorea fuertemente debido a los mucopolisacáridos ácidos de las células mucosas, lo que imposibilita ver las estructuras internas cartilaginosas.

3º) NEUTRALIZACIÓN.

Inmediatamente después de la coloración del cartílago, los peces se transfieren a etanol absoluto por un lapso de tiempo de 3 días, renovando el alcohol todos los días.

4º) MACERACIÓN.

Este es un paso central de la técnica ya que será el que nos permitirá iniciar la diafanización de los ejemplares. Requiriendo de paciencia por parte del técnico y una observación regular de los ejemplares para determinar en qué momento decidiremos pasar al paso siguiente de la técnica.

Para la maceración, transferir los ejemplares a la solución de K(OH) utilizando concentraciones del 1%, 3% o 5% dependiendo del tamaño del animal, esto es, a mayor tamaño empleamos una concentración de K(OH) más elevada. En esta solución las muestras deberán mantenerse hasta que el esqueleto se distinga claramente a través de las partes blandas, lo que puede variar entre 3 y 12 días dependiendo de la concentración de K(OH) utilizada. A mayor tamaño del ejemplar y menor concen-

tracción de K(OH) más tiempo de macerado. Es conveniente que los ejemplares de menor tamaño se coloquen a concentraciones bajas para evitar que el tejido se rompa y no se pierda la muestra. Las mismas deben ser observadas con regularidad, las de mayor tamaño cada 2 días y finalizando la transparentización cada día. En los ejemplares más pequeños (menos de 10 mm) se debe chequear todos los días. Si en una misma muestra hay variación de tamaño de los ejemplares, lo aconsejable es separarlas para la maceración y emplear distintas concentraciones. Es importante resaltar que durante la maceración, aprovecharemos para eliminar las escamas del tegumento de aquellas especies que las posean (como el pejerrey) y en los ejemplares de gran talla también eliminaremos el tejido muscular macerado para facilitar la posterior coloración del hueso. Para esto emplearemos el borde no cortante de una hoja de bisturí para raspar suavemente la superficie, eliminando así los tejidos reblandecidos por el K(OH).

5ª) TINCIÓN DEL HUESO.

Colocar los peces en solución de trabajo de rojo alizarin durante 30 minutos. Luego de la coloración lavar las muestras con agua destilada para eliminar el exceso de colorante.

6ª) TRANSPARENTIZACIÓN.

Transferir los ejemplares a la solución transparentadora de Mall al 1 ó 3% hasta que los tejidos no esqueléticos sean completamente transparentes, lo que ocurrirá en un lapso de 1 a 3 días, dependiendo del tamaño del animal.

7ª) PRESERVACIÓN.

Una vez concluida la transparentización, se deben acondicionar

los ejemplares para su almacenamiento en glicerina. Para ello, sumergiremos los peces en las soluciones de glicerina de concentración creciente en K(OH) 0,5% (recordar las proporciones 1:3, 1:1 y 3:1), pasándolos finalmente a glicerina pura. Si las muestras están bien diafanizadas, se pueden hacer los pasajes por estas soluciones cada 2 horas. En el caso que consideremos que no están del todo transparentes, podemos mantenerlas 1 día en cada solución dándole tiempo al K(OH) para seguir actuando.

Estando en glicerina, los ejemplares pueden perder un poco de rojo alizarin tiñendo de rosado el medio por lo que se aconseja hacer algunos cambios de glicerina pura si esto ocurre.

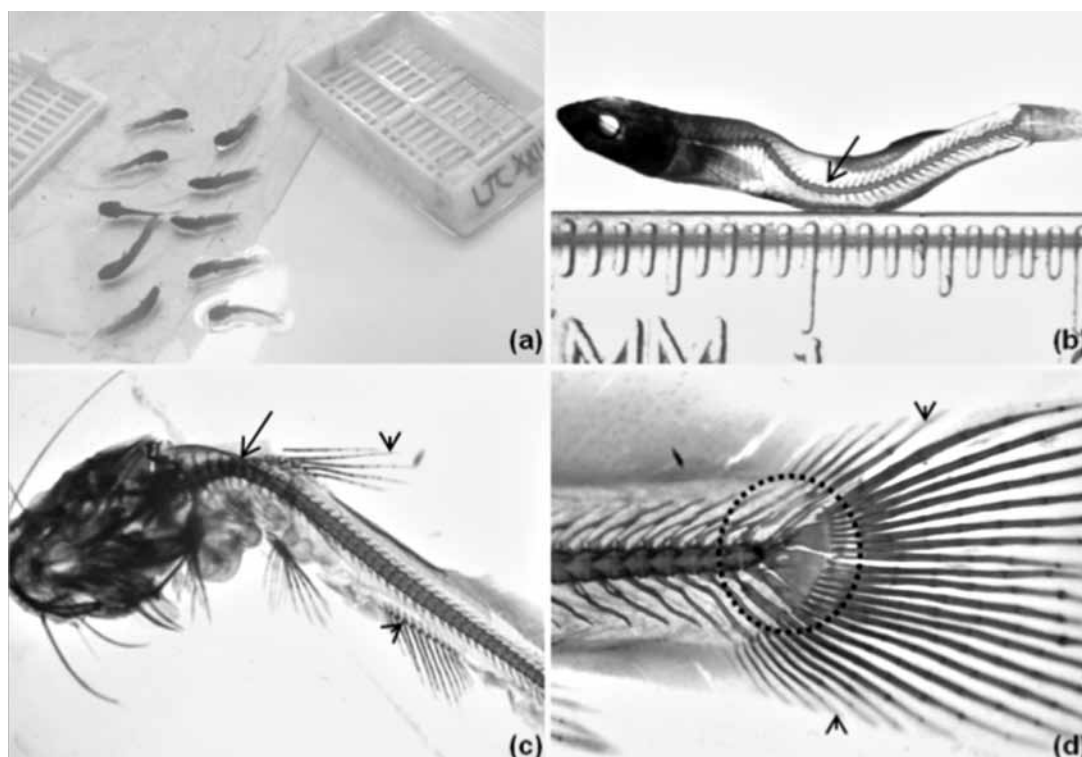
RESULTADOS OBTENIDOS CON LA TÉCNICA

Concluida la técnica se podrán observar los ejemplares transparentes, permitiendo la visualización de las estructuras internas teñidas con azul Alcian (cartilago) y rojo alizarin (hueso) (Figuras 3b, 3c, 3d).

Es importante remarcar que la solución ácida de azul Alcian tiñe mucopolisacáridos ácidos lo que puede dar a errores en la observación del cartilago, ya que estos glucosaminoglucanos también se encuentran en otros tejidos como el epitelio del tegumento o del tubo digestivo. Además, el azul Alcian al ser preparado en una solución ácida puede producir desmineralización en el tejido óseo en etapas tempranas de desarrollo de los ejemplares y así el tejido óseo puede perder afinidad por el colorante rojo alizarin (Boglione y col, 2013).

Por otra parte, es importante mencionar que debido a que el rojo alizarin es un colorante aniónico puede teñir de manera inespecífica los tejidos blandos dando una tinción rosada de fondo en las muestras.

Figura 3. a. Imagen que muestra 10 ejemplares de bagre sudamericano ya teñidos con azul Alcian y listos para ser colocados nuevamente en el cassette de biopsia para la neutralización. b. Pejerrey diafanizado en el que puede observarse una lordosis (flecha larga) a nivel de las vértebras caudales. c. Bagre sudamericano diafanizado presentando una escoliosis (flecha larga) en las primeras vértebras precaudales. d. Imagen ampliada del complojo caudal normal (área punteada) de un bagre sudamericano. En las figuras 3c y 3d se observa una tinción diferencial que distingue el azul Alcian en los mucopolisacáridos de la piel y del cartilago en la inserción y porción distal de los radios (flecha corta) de las aletas aún no completamente osificados y el rojo alizarin en el hueso.





CONCLUSIONES:

La técnica de diafanización seguida de coloración diferencial de cartílago y hueso mediante el empleo de azul Alcian y rojo alizarin es una técnica sencilla que puede ser realizada con el equipamiento disponible en cualquier laboratorio de Histología o Embriología. Requiere de tiempo y del buen criterio del técnico que la ejecuta para obtener resultados satisfactorios ya que el mismo deberá decidir, en base a la observación de los ejemplares, en qué momento iniciar cada paso de la técnica. La misma presenta gran utilidad para el estudio del desarrollo del esqueleto óseo-cartilaginoso en peces permitiendo evaluar el impacto de las malformaciones bajo determinadas condiciones de cultivo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alaniz, M., Morón Alcain, E., López, P.A., Hernández, D.R., Tobin, M., Ugalde, J.A., Vigliano, F.A. (2013). Efectos de la triploidía inducida por choques térmicos sobre el desarrollo embrionario y larval del bagre sudamericano (*Rhamdia quelen*). En: *Memorias de la IV Conferencia Latinoamericana sobre Cultivo de Peces Nativos*, Villavicencio (Colombia). 8 al 11 setiembre de 2013.
2. Bogleione, C., Gisbert, E., Gavaia, P., E Witten, P., Moren, M., Fontagné, S., & Koumoundouros, G. (2013). Skeletal anomalies in reared European fish larvae and juveniles. Part 2: main typologies, occurrences and causative factors. *Reviews in Aquaculture*, 5(s1), S121-S167.
3. Dawson A. A. 1926. Note on the staining of the skeleton of cleared specimens with Alizarin Red S. *Biotechnology & Histochemistry*; 1, 123-124.
4. Gavaia, P., Sarasquete, C. & Cancela, M. (1999). Detection of mineralized structures in early stages of development of marine Teleostei using a modified alcian blue - alizarin red double staining technique for bone and cartilage. *Biotechnic & Histochemistry*, 75:79-84.
5. Kiernan, J.A. (1990). *Histological and histochemical methods. Theory and practice*. Kiernan, J.A. (ed). Second edition. Pergamon Press: Oxford. 433 pp.
6. Lievreumont, M., Potus, J., Guillou, B. (1982). Use of alizarin red S for histochemical staining of Ca^{2+} in the mouse; some parameters of the chemical reaction in vitro. *Acta Anatomica*. 114, 268-280.
7. Mall, F. P. 1902. On ossification centers in human embryos less than one hundred days old. *American Journal of Anatomy*, 5, 435-458.
8. Scott, J.E., Quintarelli, G., Dellovo, M.C. (1964). The chemical and histochemical properties of Alcian blue. I. The mechanism of Alcian blue staining. *Histochemie*, 4, 73-85.
9. Taylor, W.R., Van Dyke, G.C. (1985). Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. *Cybium* 9, 107-119

L A L A N N E

**NUESTROS
PRODUCTOS**

Filtros para citocentrífuga

Lápiz punta diamante (gema)

Reactivos puros y analíticos

Kits de tinción

Navajas descartables

Archivadores de muestras

Moldes de acero inoxidable

Portaobjetos carga positiva

Descartables



**PROVEEDOR
INTEGRAL DE
HISTOLOGÍA
Y
CITOLOGÍA**

- **ENVÍOS AL INTERIOR**
- **ASESORAMIENTO TÉCNICO**
- **ENTREGA INMEDIATA**
- **AMPLIO STOCK**
- **FABRICACIÓN PROPIA**
- **MARCAS NAC. E IMPORTADAS**

L A L A N N E

Bermúdez 726 (CABA)

Horario: L a V 9 a 17 hs.

Teléfax: (011) 4672-7009

Email: lalannelab@yahoo.com.ar



**Nuestro lema:
honestidad,
compromiso y
servicio.**

Metodología de la investigación:

Todos podemos investigar.

DRA. IDELMA SERPA

Tocoginecóloga.

Especialista en Medicina

Reproductiva

Doctora en Ciencias

Biomédicas

Profesora Titular Cátedra

Metodología de la Inves-

tigación y Bioestadística

IUNIR - PROAR

Centro Médico

EL CONOCIMIENTO QUE SE CONSTRUYE CONTINUAMENTE

Ninguna profesión disfrutará de un crecimiento sostenido sin ayuda de la investigación científica, pues a través de la investigación se intenta lograr una base científica que guíe la práctica y asegure la credibilidad de la profesión.

Para la construcción del conocimiento son fundamentales dos requisitos: uno es la creación de una idea y otro es la comprobación de esa idea: investigación.

Se llama investigación científica a la actividad que nos permite obtener conocimientos científicos, es decir, conocimientos que se propone sean objetivos, sistemáticos, claros, organizados y verificables, donde el sujeto de esta actividad suele recibir el nombre de investigador, y acorde a éste se presenta el esfuerzo de desarrollar las tareas para lograr nuevos conocimientos.

Todo proceso de investigación comienza con una idea, una pregunta. ¿Porqué es importante la pregunta de investigación? Ayuda a diseñar el estudio adecuado y aumenta la credibilidad de los resultados del estudio.

Existen varios tipos de preguntas que el investigador puede formularse a la hora de desarrollar un trabajo científico:

- Frecuencia
- Etiología – Causalidad
- Pruebas diagnósticas
- Efectividad de intervenciones
- Curso clínico y pronóstico
- Eficiencia (evaluación económica)

Es posible que el número de preguntas potenciales sobre un tema sea grande.

Adicionalmente, el tiempo y los recursos (humanos, técnicos, económicos) necesarios para contestar las preguntas de investigación suelen ser limitados.

Finalmente, la importancia de una pregunta de investigación puede cambiar en función de quien la plantee: lo que es de interés para el clínico que trabaja en un centro de atención primaria quizás es diferente que aquello que interesa a quien presta servicios en un centro de referencia, o a lo que interesa a quien traza las políticas de salud a nivel institucional o regional.

Todo esto hace necesario contar con un mecanismo que permita identificar las preguntas de mayor interés en la profesión de cada investigador o en la actividad habitual que cada uno realice.

La investigación debe ser orientada a un tema de interés en el área de trabajo pero también debe ser interesante para quien investiga, para poder ser sostenida en el tiempo y sus resultados aplicables a la práctica cotidiana.

Se recomienda que el texto de la pregunta contenga, de forma explícita, cuatro elementos:

PICOT (en inglés):

P: población o características de los sujetos implicados

I: intervención o exposición (preventiva o curativa) a la que se somete a la población

C: control contra el que se compara la intervención

O: desenlace (outcome) de interés

T: objetivo (target) del estudio; ¿la intervención es mejor? ¿Es equivalente (no es inferior)?

Una pregunta de investigación bien planteada asegura el diseño adecuado y orienta a la redacción de objetivos claros.

Los diseños de investigación van a depender del objetivo planteado. El diseño a su vez va a determinar el nivel de evidencia científica. En la siguiente pirámide se muestran los posibles diseños de investigación en donde en el vértice se encuentran aquellos diseños de mayor evidencia científica y en la base aquellos con menor calidad de evidencia pero útiles para planear diseños de mayor peso en trabajos futuros.



BioGenex

ACELERANDO EL PASO DE LA MEDICINA PREDICTIVA

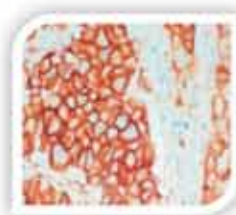


Técnicas Precisas
Diagnóstico Perfecto

•Anticuerpos
Poli-Monoclonales



•Sistemas
de Detección



•Coloraciones
Especiales



IHC | Special Stains | FISH&ISH | miRNA | multiplex IHC/ISH | in Situ PC

LA MEJOR OPCIÓN
CUANDO SE QUIERE
PRESICIÓN

•Cuchillas
para micrótopo



•GENEX brand

PORTAOBJETOS
CARGA POSITIVA
Fuerte y segura adhesión tisular

Distribuye:

Genex[®] **Diagnostics**

Timoteo Gordillo 4229 (C1439GIE)
Tel. (+5411) 4601-4816 Fax. (+5411) 4638-1810
ventas@genex.com.ar www.biogenex.com





BIOPUR

DIAGNOSTICS

- Histología •
- Citología •
- Anatomía Patológica •
- Química Clínica •

40
años

1974 - Noviembre - 2014



FIJADORES

Biopack® cuenta con una gran variedad de fijadores para uso histológico y citológico. A continuación les presentamos nuestra línea de fijadores:

💧 PATHOFIX®

💧 FIJADOR DE BOUIN

💧 FIJADOR DE CARNOY

💧 FIJADOR DE ZENKER

FIJADOR DE SACCOMANO

TRICRÓMICOS

Biopack® desarrollo una amplia gama de tinciones Tricómicas para la diferenciación de Fibras Colágenas.

A continuación presentamos nuestra línea de colorantes:

💧 TRICROMICO DE GOMORI

TRICROMICO DE MASSON
(PONCEAU FUCSINA ACIDA)

TRICROMICO DE MASSON
(FAST GREEN FCF)

TRICROMICO DE MASSON
(AZUL DE ANILINA)

TRICROMICO DE MASSON
(ESCARLATA FUCSINA ACIDA)

💧 TRICROMICO DE VAN GIESON

Your Chemical Support

Oficinas Comerciales:

Dirección: Av. Díaz Vélez 4562
Capital Federal - CP 1405 -
Argentina

Teléfono: +54 (11) 4958-1448
Fax: +54 0800-222-9520

Atención: 9-17 hs.



Planta Industrial:

Dirección: Ruta 9 km. 105.5 -
Zárate - Bs.As - Argentina

Atención: 9-17 hs.

sitio web: www.biopack.com.ar

e-mail: info@biopack.com.ar



Los estudios en animales, tejidos y/o células aunque en la base de la pirámide, son necesarios para asentar las bases de trabajos de investigación futuros en seres humanos y muy útiles para explicar fenómenos básicos, imposibles de ser demostrados con otro diseño.

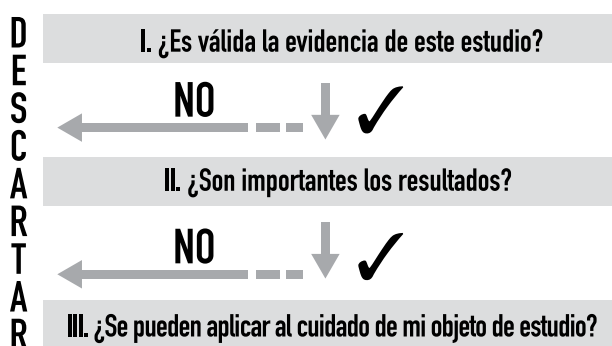
Una vez que se ha pensado en una pregunta de investigación y en base a ella se han establecido los objetivos y seleccionado el diseño de la investigación, se debe realizar una búsqueda en la literatura para profundizar los conocimientos sobre el tema a investigar y sobre todo, para conocer trabajos previos desarrollados en la misma idea del trabajo que quiero llevar a cabo. Esto es importante para no cometer el error de orientar una inves-

tigación en un tema ya conocido e investigado en profundidad por otros autores. También es útil para encontrar las brechas de investigaciones inconclusas o que proponen nuevos caminos a seguir sobre un mismo tema.

Uno de los buscadores más importantes en el campo de las ciencias de la salud es "Pubmed" (www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed). Una base de datos también muy importante y completa es la Biblioteca Cochrane (www.cochrane.org). También se debe realizar una búsqueda en las revistas más importantes de cada profesión o especialidad.

Se deben valorar los trabajos científicos encontrados en función de los objetivos planteados:

Evaluación crítica de la literatura



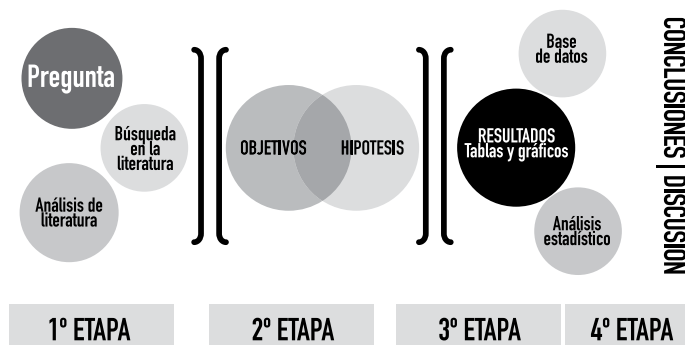
Una vez realizada la búsqueda y planteado el objetivo y la hipótesis, y una vez escogido el diseño adecuado, puedo llevar a cabo mi investigación. Esto puede consistir en la realización de un experimento o en la búsqueda de casos clínicos, por ejemplo. Se debe realizar una base de datos para el posterior procesamiento estadístico: Resultados.

Finalmente estos resultados deben ser interpretados en forma no numérica: Conclusión. Y deben ser comparados con los re-

sultados de investigaciones previas, resaltando falencias del trabajo o limitaciones y abriendo, en base a esta autocrítica, futuros caminos de investigación: Discusión.

Resumiendo, una investigación debe constar de ciertos momentos sistematizados:

Pasos de la Investigación



Toda investigación científica debe culminar con la comunicación de los resultados a la comunidad científica. Esto puede ser mediante la presentación en congresos y/o con la redacción de un artículo para una revista científica.

Toda investigación que queda sólo en manos del investigador es una información valiosa que se pierde. Para el enriquecimiento del conocimiento en una profesión es importante comunicar los

resultados de toda investigación, aunque pequeña, que se haya realizado. Pequeños aportes pueden ser valiosos para el desarrollo de nuevos conocimientos.

Es por esto que TODOS PODEMOS INVESTIGAR desde nuestro lugar cotidiano de trabajo o estudio y debemos comprender que cualquier aporte realizado en forma seria aunque sencilla, forma parte de los cimientos del conocimiento científico.

El más completo centro de abastecimiento para su laboratorio de Anatomía Patológica.

Importadores de las líneas



Descartables plásticos para histología

- > Cassettes de procesamiento
- > Anillos de inclusión
- > Baterías de coloración
- > Cajas plásticas para transporte y archivo
- > Pipetas, tips, microtubos, etc.

Amplia línea de insumos, consumibles y soluciones

- > Parafina
- > Formol
- > Sustitutos del Xileno



> Portaobjetos frosted end, pulidos y naturales

> Cubreobjetos todas las medidas

> Portaobjetos con CARGA POSITIVA

> Portaobjetos SILANIZADOS

Excelente relación precio-calidad.
Todos los productos vienen envasados al vacío para su preservación.

PATHO CUTTER
ERMA MICROTOME BLADES

Representantes exclusivos de la línea de navajas descartables para micrótopo Patho Cutter, de Erma Inc.

Navajas japonesas de excelente calidad, durabilidad y filo de alta precisión, ofrece 2 alternativas según las características del tejido.

El recubrimiento especial de su filo garantiza un corte fluido y de altísima precisión

Distribuidores de



- > Respondemos su presupuesto en 24 hs
- > Se hacen envíos al interior 2 veces por semana

Julio Javier Azcurra

Teléfono / Fax: (011) 4747-1289

e-mail: ventas@julioazcurra.com.ar

San José 2355, Beccar (1643) Prov. de Buenos Aires
SE.DRO.NAR.: 06963/04

XXI Congreso Argentino de Histotecnología.

Rosario. 15 -16 Noviembre de 2013.

TÍTULO:

*Estudio comparativo
sobre Tinción de Grasas
Tisulares con Bixina y
Lisocromos de rutina
tipo Sudán.*

AUTORES:

Cristian Reina, Valeria
López*, Vanesa Villar*
& Víctor Hugo Tomasi
(*Alumnos).*

INSTITUCIÓN:

*Instituto Superior de
Formación Docente
y Técnica N° 43
(Lobos, Bs.As.)*

DIRECCIÓN:

*ISFD y T N° 43:
Santamarina 183
CP 7240. Lobos,
Buenos Aires
TE: 02227-430076*

E-MAIL:

vtomasi@fmed.uba.ar

RESUMEN DE PÓSTER:

RESUMEN: El propósito del presente es determinar si Bixina es un colorante adecuado para teñir grasas tisulares, en comparación con lisocromos tipo Sudán, empleados de rutina en técnica histológica, y analizar sus propiedades tintoriales en función de sus conformaciones estereoquímicas.

OBJETIVOS: 1. Colorear en paralelo secciones criostáticas sueltas de muestras de tejido graso con soluciones etanólicas de Bixina, Sudán III y Sudán BB para comparar propiedades tintoriales, a diferentes tiempos de exposición y lavados post-tinción. 2. Evaluar las características tintoriales de Bixina, Sudán III y Sudán BB para explicar las relaciones estructurales de los lisocromos, valores QSAR y capacidad de tinción. 3. Analizar ventajas y desventajas de la coloración con Bixina para determinar su aplicación en la tinción específica de grasas tisulares.

MATERIALES Y MÉTODO: Muestras de corazón de ovinos fijadas en formol de Baker, fueron seccionadas en criostato a -20°C y colocadas en una cápsula conteniendo agua destilada. Las soluciones colorantes de Bixina, Sudán III y Sudán BB se prepararon a saturación en etanol a 70°. Los cortes sueltos fueron teñidos en cada una de las soluciones colorantes en paralelo durante 5, 15 y 30 minutos. Posteriormente se realizaron 2 lavados con etanol a 70° para eliminar el exceso de colorante, se trataron con agua destilada y contracoloraron con Hematoxilina durante 30 segundos. Luego, las secciones se montaron con glicerina y fotografiaron.

RESULTADOS: Las crio secciones teñidas con Bixina mostraron coloración del tejido graso, al igual que con Sudán III y Sudán BB. No obstante, los tiempos de exposición requeridos por Bixina para lograr una tinción adecuada fue de 30 minutos, si lo comparamos con los lisocromos tipo Sudán que con solo 5 y 15 minutos respectivamente, fueron suficientes. Si bien, se podrían prolongar los tiempos de exposición de Bixina, encontramos al mismo tiempo que en lavados posteriores a su tinción para quitar el exceso de colorante, se produce una pérdida del tinte, haciendo que los preparados teñidos se vean débiles, en comparación con los tipos Sudán. Estos resultados se explican desde la Ley de Distribución de una sustancia entre dos disolventes inmiscibles, tema de nuestro próximo trabajo. Asimismo, a diferencia de los colorantes Sudán, la tinción de Bixina produjo una coloración de fondo inespecífica muy débil que si bien no entorpece la coloración de la grasa, indica que Bixina podría tener apetencia por otros componentes tisulares, vía transferencia de cargas a través de los grupos polares del colorante.

CONCLUSIONES: De acuerdo a los resultados obtenidos, concluimos que Bixina colorea con un tinte similar a Sudán III pero con menor intensidad que éste y Sudán BB. Si bien Bixina presenta áreas hidrofóbicas y su Log P es mayor que 5.0, lo cual nos ha permitido predecir su afinidad por la tinción de grasas, la presencia de 2 grupos de átomos de elevada electronegatividad (el Oxígeno 3,5 en la Escala de Pauling), conduce a su gran inestabilidad frente a los lavados posteriores, dejando los cortes débilmente teñidos. Aquí se comprende que, a pesar de su hidrofobicidad, Bixina puede redisolverse desde la grasa tisular en función a una nueva partición que sufre el colorante por dichos lavados. Así y, a pesar que su Log P es 5.3, los grupos oxigenados jugarían un rol importante, vía Puentes hidrógenos con los baños post-tinción de manera rápida y efectiva. Esto no sucede con los colorantes de Log P mayor a 7, tales como los colorantes tipo Sudán, donde los lavados posteriores eliminan el exceso de colorante del tejido pero no sus moléculas ya unidas a las grasas por el fuerte efecto hidrofóbico (Sudán III presenta un solo átomo de oxígeno en su molécula, mientras que Sudán BB no tiene). Sustenta estos conceptos, el hecho que con Sudán III y BB colorea en pocos minutos sin importar los tiempos de lavados posteriores. Por otro lado, la aparición de una tinción de fondo con Bixina nos permitiría inferir que los grupos polares de Bixina pueden encontrar sitios de unión a componentes no grasos a través de grupos aminos de las proteínas, disminuyendo el contraste y marcando cierta inespecificidad tintorial. Bixina fue sugerido para teñir grasas por Ciscar en 1965, pero no hallamos otras citas que empleen este colorante debido, posiblemente, a los resultados irregulares de tinción con Bixina y a la dificultad de lograr una coloración adecuada y equilibrada entre la tinción y los post-lavados. Respecto a los valores QSAR, que determinamos en un trabajo previo, nos permite predecir que Bixina ha de colorear grasas. No obstante, el comportamiento complejo del colorante depende de las características cuali-cuantitativas de los átomos que la constituyen. En este caso, Bixina presenta una cadena alifática hidrofóbica entre Carbonos 1-20 y estos 2 Carbonos, a su vez, están ligados a elementos con diferentes grados de polaridad pero suficientes para propiciar su partición con los solventes de lavados post-tinción, haciendo que este colorante no tenga mayor aplicación para coloración de grasas tisulares por la tinción relativamente débil y aparición de un «background» inespecífico.

El presente trabajo significa una contribución a la teoría de la coloración biológica con lisocromos, ya que permite comprender el comportamiento de las moléculas colorantes frente a las macromoléculas tisulares, en este caso: Grasas. Seguiremos trabajando...

TÍTULO: RESUMEN DE PÓSTER:

"Estudio comparativo de Muestras Biológicas en Microscopía Electrónica de Barrido en sus tres modos de trabajo: Alto Vacío, Bajo Vacío, Modo Ambiental".

AUTORES:

Tartalini, Vanina; Rizzo, Pablo; Díaz, Pablo; Ávalos, Martina; Bolmaro, Raúl

INSTITUCIÓN:

Instituto de Física Rosario. Centro Científico Tecnológico CONICET. Rosario. Sta. Fe. Arg.

DIRECCIÓN:

*Bv. 27 de Febrero 210 bis.
e-mail: tartalini@ifir-conicet.gov.ar*

OBJETIVOS: El objetivo es comparar calidad de observaciones de diferentes tejidos de origen biológico realizadas en los modos de trabajo que ofrece un Microscopio Electrónico de Barrido (SEM) actual. Específicamente, se establecerá el modo de trabajo más adecuado dependiendo de las características del tejido y de los aspectos a analizar.

MATERIAL Y MÉTODOS: Las muestras fueron preparadas de acuerdo a protocolos ya establecidos en la literatura relativa al tema. Se trabajó con un SEM FEI Quanta 200F en sus tres modos de operación: Alto Vacío (HV), Bajo Vacío (LV) y Modo Ambiental (ESEM).

En el modo HV, se reduce al máximo el número de partículas dentro de la cámara minimizando la probabilidad de dispersión de electrones, mejorando así la resolución hasta 2-3 nanómetros.

Los modos LV y ESEM facilitan la observación de muestras no conductoras mediante mecanismos de reducción de carga electrónica sobre las mismas. Al incrementar la presión de la cámara, con respecto a la condición de bajo vacío, se aumenta el número de partículas alrededor de la muestra lo que ocasiona

una dispersión del haz de electrones que reduce la resolución de la observación.

En los casos en los que fue necesario recubrir las muestras se utilizó un Sputter Emitech SC 7640.

Las imágenes obtenidas por microscopía electrónica fueron contrastadas con imágenes obtenidas por microscopía convencional para lo cual se utilizaron microscopios ópticos Olympus: GX51 de platina invertida y BX41.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN: Se discutirá a partir de las imágenes obtenidas por microscopía electrónica la importancia de una adecuada elección en el modo de observación. El protocolo de preparación de una muestra para su observación en microscopía electrónica debe ser elegido teniendo en cuenta el modo en el cual se va a operar el microscopio.

Cada modo de trabajo tiene ventajas que lo hacen único: en HV es su resolución, en LV es la posibilidad de observar muestras sin recubrimiento y en modo ESEM la viabilidad para la observación de estructuras de tejido blando con protocolos de preparación básicos que implican no solo bajos costos de insumos para su preparación si no una mínima intervención en la muestra.

Agenda de Actividades 2015

SEPTIEMBRE:

XXII CONGRESO ARGENTINO DE HISTOTECNOLOGÍA.
CIUDAD DE ROSARIO. PROVINCIA DE SANTA FE. ARGENTINA.

ACTIVIDADES NO ORGANIZADAS POR LA SAH

FEBRERO:

Curso de Técnicas Histológicas. 23 al 27 de febrero de 2015.
IIB INTECH sede Chascomús. Contacto: cursohistotecn@gmail.com
<http://cursohistotecn.wix.com/cursohistotecn>

MAYO:

Encuentro Regional de Histotecnología. 16 de Mayo 2015
Indaiatuba/SP - Brasil

OCTUBRE:

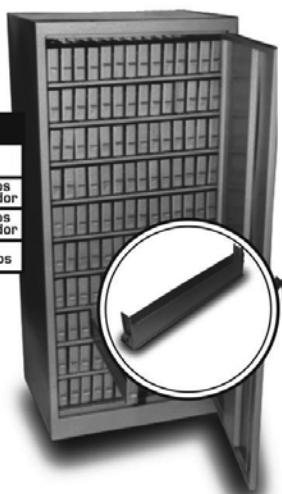
III Congreso Internacional Laboratorio de Anatomía Patológica. 28 al 31 de octubre de 2015
Lima - Perú.

Congreso Brasileiro de Histotecnología. 30 - 31 Octubre y 1º Noviembre 2015
San Pablo/SP - Brasil

Gabinete con puerta y cerradura para la clasificación y conservación de portaobjetos.

01

Artículo	Dimensiones (mm)			Cajones	Capacidad
	Ancho	Largo	Alto		
01	650	500	1400	140	60200 portaobjetos sin separador
02	650	500	700	70	30100 portaobjetos sin separador
03	cabe dentro de los cajones				150 portaobjetos



03

MODULO SEPARADOR CON RESORTE

(para secado de preparados)

Puede alojarse dentro de los cajones

***PARA OTRAS CAPACIDADES CONSULTAR**

SISTEMA COMPONIBLE Y APILABLE

PARA LA CLASIFICACIÓN Y CONSERVACIÓN DE DIAPOSITIVAS, CASOTES, ANILLOS Y PORTAOBJETOS.

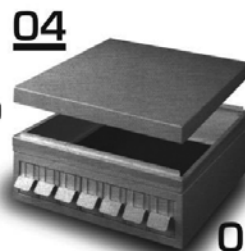
Consiste en diferentes unidades modulares, que pueden combinarse según necesidades.

Construidos en chapa de acero, pintura horneada color a elección.

Cajones deslizables sobre guías metálicas, con tirador y tarjetero.

Modulo Tapa (útil para todos los módulos)

Artículo	Dimensiones (mm)		
	Ancho	Largo	Alto
04	560	500	50



04

Modulo para Diapositivas

Artículo	Dimensiones (mm)			Cajones	Capacidad
	Ancho	Largo	Alto		
05	560	500	110	7	1600 diapositivas

05

Modulo para Casetes

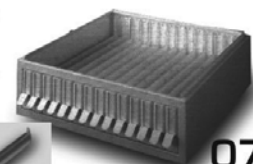
Artículo	Dimensiones (mm)			Cajones	Capacidad
	Ancho	Largo	Alto		
06	560	500	260	18 dobles	1800 casetes



06

Modulo para Portaobjetos

Artículo	Dimensiones (mm)			Cajones	Capacidad
	Ancho	Largo	Alto		
07	560	500	140	14	6500 portaobjetos sin separador



07

Modulo separador con resorte

Artículo	Dimensiones (mm)	Capacidad
03	La correspondiente para que se aloje dentro de los cajones	150 portaobjetos



03

Base Soporte

Artículo	Dimensiones (mm)		
	Ancho	Largo	Alto
08	560	500	150



08

confort

EQUIPAMIENTO PARA EMPRESAS

Industria Argentina

SAN NICOLAS 2735 - C1417AOM - CDAD. DE BUENOS AIRES - TEL/FAX: 4501-1288 - CEL: 15-5710-8834// e-mail: jclaporta@fibertel.com.ar -

BOND[AD]

ALTA SENSIBILIDAD



Leica
MICROSYSTEMS

Automatización completa para técnicas **IHQ & ISH**.
Simple de usar con resultados simplemente brillantes.

SIMPLE



registro de reactivos



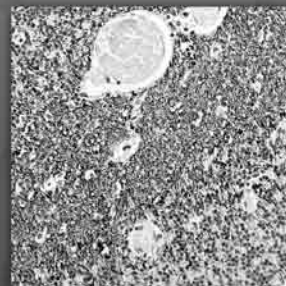
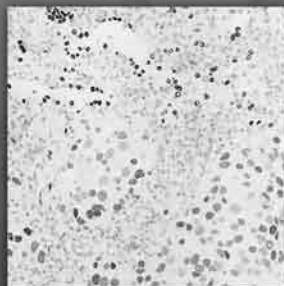
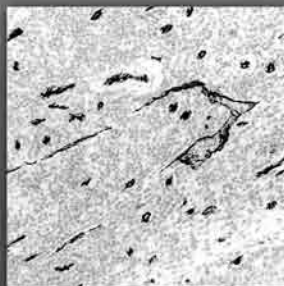
carga de reactivos



carga de slides



procesamiento



SIMPLEMENTE BRILLANTE

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

- Reactivos listos para usar
- Protocolos preseleccionados
- "click and go" (sin dilución, titulación o mezclado)
- Monitoreo de los niveles de stock

FLUJO DE TRABAJO

- Procesamiento continuo
- Capacidad para muestras urgentes
- Resultados diagnósticos en el día

APLICACIÓN DE REACTIVOS (TECNOLOGÍA CONVERTILE™)

- Menor volumen de reactivos y desechos (100-150 µl)
- Aplicación de reactivos en forma suave y uniforme
- Prevención de la evaporación; mejor conservación del tejido
- Apto para tejidos en parafina y secciones congeladas

TINCIÓN

Completamente automatizada

- Desparafinación sin xilol
- Recuperación antigenica
- Marcación específica
- Contratinción

DETECCIÓN CON TECNOLOGÍA DE POLÍMEROS

- Sensibilidad excepcional
- Libre de Biotina
- Excelente especificidad
- Alta definición
- Multi-Link: detección de anticuerpos primarios de ratón y de conejo

CALIDAD

- Manejo confidencial de datos
- Reactivos superiores
- Automatización completa
- Tecnología CONVERTILE™
- Tecnología de detección avanzada
- Reactivos e instrumental trabajando en armonía

ESPECIFICACIONES TÉCNICAS

Dimensiones Módulo de Procesamiento (h x w x d): 703 mm x 760 mm x 775 mm

Peso: 120 Kg

Temperatura de procesamiento: ambiente hasta 100°C

Capacidad de slides: 3 bandejas independientes de 10 slides cada uno

Capacidad de reactivos: 7 ml ó 30 ml

Número de contenedores de reactivos: 36 (4 bandejas de 9)

Volumen de dispensado: 100 µl ó 150 µl

Modularidad: 5 módulos de procesamiento por computadora

Desechos: separación de reactivos peligrosos (DAB) de no peligrosos

Base de datos: seguimiento e informe completo de todos los slides

Integración (LIS): con ASTM y HL7



Soluciones Químicas a Problemas Histotecnológicos

ARIEL D. QUIROGA.

*Cátedra de Morfología-
Facultad de Ciencias
Bioquímicas y
Farmacéuticas – UNR.
Instituto de Fisiología
Experimental (IFISE)-
CONICET*

INTRODUCCIÓN

La Histotecnología es la disciplina que estudia los fundamentos técnicos y la secuencia de manipulaciones necesarias para llevar a cabo el análisis de los tejidos de los seres vivos. Por otra parte, la química es el estudio de la materia y la energía, y de las interacciones entre ellas y se centra en las propiedades de las sustancias y las interacciones entre los diferentes tipos de materia. Por ello, la histotecnología y la química están íntimamente relacionadas y la existencia de la primera se vería seriamente amenazada sin la presencia de la segunda. Así, podemos decir que el laboratorio de histotecnología, es un laboratorio químico para el desarrollo de las técnicas histoquímicas, citoquímicas e inmunocitoquímicas, así como en el proceso de inclusión en parafina y en las coloraciones.

Así como en cualquier laboratorio químico, en el laboratorio histotecnológico encontramos una amplia variedad de sustancias inorgánicas y orgánicas que nos permitirá llevar a cabo los objetivos planteados. En este capítulo nos proponemos explicar cómo preparar una solución a partir de un reactivo sólido. Haremos foco en los detalles del proceso y veremos alternativas comunes para la preparación de soluciones.

SOLUCIONES

Las soluciones son mezclas homogéneas que están formadas por dos o más sustancias puras, el solvente y el soluto. La principal característica de ambos y la condición más importante para formar una solución es que no reaccionen entre sí. Definimos como soluto a la sustancia disuelta en una solución, y por lo general es la que está presente en menor cantidad. Mientras que el solvente es la sustancia que va a disolver el soluto. Hay solventes polares y no polares. El solvente polar por excelencia es el agua y es el más utilizado en todos los laboratorios. Mientras que hay varios ejemplos de solventes apolares muy utilizados en los laboratorios de histotecnología tales como tolueno, xileno y acetona, entre otros.

Las soluciones pueden prepararse a partir de soluto sólido, la cual será reconocida como una disolución, o a partir de soluto líquido, que será reconocida como una dilución. Como cabe de esperar, existen diferencias técnicas en la forma de preparar cada una. Como definimos anteriormente, nos centraremos en la metodología para preparar una solución a partir de droga sólida.

EXISTEN 7 PASOS A SEGUIR PARA PREPARAR UNA SOLUCIÓN A PARTIR DE DROGA SÓLIDA:

- 1) Realizar los cálculos correspondientes a la cantidad de droga sólida necesaria
- 2) Pesar la droga sólida necesaria
- 3) Disolver la droga en un vaso de precipitados en un volumen de solvente menor al volumen final a preparar
- 4) Trasvasar la disolución a un matraz aforado
- 5) Lavar el vaso repetidamente y agregar al matraz
- 6) Aforar el matraz: llevar a volumen (el matraz tiene un volumen específico).
- 7) Agitar y colocar en un frasco etiquetado: después de agitar, se vierte en un frasco previamente etiquetado con la especie química disuelta, la concentración y la fecha

Veamos ahora cuáles son las consideraciones más importantes en cada uno de los pasos.

1) Para realizar los cálculos se debe tener en cuenta la solubilidad de la droga y la concentración de la solución, así como también el volumen final a preparar. La solubilidad es una medida de la capacidad de disolverse de una determinada sustancia (el soluto) en un determinado medio (el solvente); implícitamente se corresponde con la máxima cantidad de soluto disuelto en una dada cantidad de solvente a una temperatura fija y en dicho caso se establece que la solución está saturada. Presenta unidades de concentración. La solubilidad de los diferentes compuestos químicos en los diferentes solventes puede consultarse en tablas o en páginas web que se dedican a tabular estas propiedades de las sustancias del laboratorio. Una de estas páginas es el Index Merck, en el cual aparecen la mayor parte de los compuestos químicos utilizados en el laboratorio.

2) Para comenzar a preparar una solución debemos realizarnos 2 preguntas: la primera es ¿en qué balanza deben pesarse las drogas? Para pesar los sólidos debemos tener en cuenta el tipo de balanza que tenemos disponible. Las balanzas analíticas son las más adecuadas para pesar drogas a nivel de la décima de miligramo. Sin embargo, y de manera general, las soluciones utilizadas en el laboratorio de histotecnología no requieren de una precisión analítica, por lo que cualquier balanza que nos permita pesar la centésima parte del gramo, sería adecuada (Figura 1A). La segunda pregunta es ¿en qué recipiente debe



pesarse la droga? Al momento de pesar la droga el contenedor es de crucial importancia por 2 razones. La primera es que la droga puede reaccionar con el recipiente o contenedor y la segunda es que el recipiente puede dañar la balanza. En general, los elementos más utilizados en el laboratorio de histotecnología para pesar drogas son los vidrios de reloj y trozos de papel de aluminio (Figura 1B). Es importante no perder droga al pasar sólido desde el vidrio de reloj o el trozo de papel de aluminio al vaso de precipitados dado que esto implicará menor cantidad final de droga disuelta en el solvente, lo cual redundará en una menor concentración real de la solución respecto de la calculada.

3) La disolución de la droga sólida debe realizarse en el menor volumen posible de solvente. Este volumen es fácilmente calculable si tenemos en cuenta la solubilidad de la droga. Muchas veces, la disolución requiere calor o es acelerada por el calor.

Aparte de tratarse de una cuestión de cuidado personal, es muy importante no perder droga por salpicaduras al someter la mezcla al calor por el mismo motivo tratado en el apartado anterior.

4) Una vez disuelta la droga en el menor volumen de solvente posible, tendremos que trasvasarla a un matraz aforado. El matraz aforado es un elemento calibrado, por lo general de vidrio, que nos informa un volumen exacto; es decir, podemos preparar un determinado volumen de solución por cada matraz que contemos. Lo que implica que debemos tener gran cantidad de matraces si queremos preparar un abanico de volúmenes. Los matraces aforados más comunes en el laboratorio de histotecnología nos permiten medir volúmenes que van desde los 25 mililitros hasta 2 litros de solución, pero cabe destacar que existen matraces aforados con los cuales podemos medir volúmenes mayores y menores que los expuestos. Con el fin de no perder droga, y no cometer errores por exceso o por defecto

en la concentración de la solución, el trasvase al matraz debe ser realizado con sumo cuidado. Para ello, debemos valernos de un embudo de vástago largo, que al introducirlo por el cuello del matraz, llegue hasta por debajo de la marca de volumen del mismo (el aforo). Así evitaremos que quede droga por encima del aforo (por ejemplo por salpicaduras) y nos produzca un error por exceso en la concentración de la solución. Pero por otro lado, el uso del embudo para trasvasar la disolución primaria de la droga nos permitirá no perder droga hacia afuera del matraz al tratar de trasvasarla desde el vaso de precipitados al matraz a través del fino cuello del mismo, y cometer así, un error por defecto. En este punto podemos hacernos otra pregunta: ¿es realmente necesario preparar soluciones en matraz? La respuesta es no (Figura 2A). Aunque el matraz es absolutamente necesario para preparar soluciones de concentración exacta, la verdad es que no todos los laboratorios cuentan con una amplia variedad de matraces. Por ello, en muchos laboratorios de histotecnología no es tan estricto el uso de matraces aforados (por el grado de exactitud que se requiere respecto de la concentración de las soluciones) y en su reemplazo se utilizan probetas graduadas calibradas para realizar la solución. El uso de probetas calibradas simplifica en gran medida la preparación de soluciones (dado que las mismas no presentan vástago y por ende no hay que evitar mojarlo, por lo que se hace totalmente prescindible el uso del embudo), pero la rigurosidad respecto de la cantidad de soluto manipulado debe ser igual que si estuviéramos trabajando con matraz. En estos casos, existen ciertos elementos cuyo uso está restringido y, siempre que se pueda, recomendamos evitar el uso de los mismos. Estos elementos son los vasos de precipitados y los frascos Erlenmeyer. Esto se debe a que, al fabricarlos, estos elementos no son calibrados con rigurosidad, dado que su fin es darnos una idea aproximada del volumen contenido y no un volumen exacto.

5) Antes de retirar el embudo del interior del matraz, es importante lavar el vaso de precipitados donde realizamos la disolución primaria de manera repetida para asegurarnos de no dejar droga en el vaso y cometer así errores por defecto en la concentración final de la solución. Cada lavado será realizado con pequeños volúmenes de solvente que luego se trasvasarán al matraz utilizando el mismo embudo. Dependiendo del volumen final de solución a preparar, se podrán realizar más o menos lavados y enjuagues del vaso. Sin embargo es importante tener en cuenta que la sumatoria de los volúmenes de lavado no deben superar el volumen final de la solución a preparar, dado que de este modo estaríamos diluyendo la solución.

6) Finalmente llevamos a volumen con el solvente. Para realizar esto es necesario tener en cuenta 2 cosas: a medida que vamos agregando volúmenes de solvente, debemos ir agitando por rotación el matraz así favorecemos la homogeneización; y más importante, la punta del embudo NUNCA debe tocar la solución que estamos preparando, ¿por qué? Cuando el bulbo dilatado del matraz está lleno aproximadamente hasta la mitad, debemos preguntarnos ¿cuál es la acidez deseada de la solución que estamos preparando?, ¿medimos la acidez ya?, ¿cómo medimos

la acidez?, ¿cuándo medimos la acidez? En caso de no haber medido la acidez y ser necesario ajustarla, SIEMPRE debemos hacerlo antes de llevar a volumen, dado que agregados posteriores de agua no afectarán la acidez, ¿por qué? La acidez de la solución también puede controlarse o ajustarse en el vaso de precipitados donde se disolvió la droga siempre y cuando esté a temperatura ambiente.

7) Así, continuamos agregando solvente, utilizando el mismo embudo hasta que el volumen dentro del matraz esté aproximadamente 2 cm por debajo del aforo del matraz. ¿Cómo llevamos a volumen, entonces? Llevamos a volumen valiéndonos de una pipeta. La misma puede ser graduada (es decir, no debe ser material calibrado) y debe ser introducida dentro del cuello del matraz con cuidado de no tocar las paredes del mismo y no dejar así solvente que pueda diluir la solución. La emisión de solvente para enrasar (llevar a volumen) debe realizarse gota a gota. Este proceso final, es necesario realizarlo sosteniendo el matraz con una mano a la altura de los ojos, mientras que la otra mano realiza el agregado de solvente final. Una vez enrasado (Figura 2B) el matraz se tapa con su correspondiente tapa y se agita la solución por inversión varias veces. De esta manera, hemos preparado nuestra solución. Finalmente, la solución debe ser trasvasada a un recipiente adecuado cuyo rótulo indique la sustancia química disuelta, la concentración y la fecha de preparación. Antes de almacenar la solución debemos preguntarnos ¿cuál es el recipiente más adecuado para almacenar la solución que hemos preparado?, ¿con qué sustancia estoy trabajando?, ¿reacciona con el vidrio, con el plástico, con el metal?, ¿es fotosensible?, ¿se puede almacenar a temperatura ambiente, o requiere alguna temperatura especial?

Delinearemos algunas reglas generales que se aplican habitualmente en el laboratorio.

- Los ácidos concentrados se almacenan en recipientes de vidrio. Es una excepción el HF que reacciona con el vidrio y lo carcome ávidamente
- Los ácidos diluidos se almacenan en recipientes plásticos
- Las bases en general se almacenan en recipientes plásticos
- Los solventes orgánicos se almacenan en recipientes de vidrio con tapa de vidrio esmerilado o polipropileno. Para algunos solventes orgánicos se recomienda el uso de recipientes de metal
- Las soluciones se almacenan por tipos, es decir, no se almacenan ácidos con bases, sólidos con líquidos, etc.

¿CÓMO SE CLASIFICAN LAS SOLUCIONES?

Basados en la cantidad de soluto disuelto en las soluciones, podemos clasificarlas de dos maneras. Una de ellas hace referencia sólo a las propiedades cualitativas de la solución, la denominamos empírica, y referencia la dilución de las mismas y abarca soluciones diluidas, concentradas, saturadas y sobresaturadas (Cuadro 1). La otra manera de clasificar las soluciones hace referencia a las propiedades cuantitativas de la solución, la denominamos valorada, y referencia la cantidad exacta de soluto disuelto y abarca soluciones porcentuales, molares y normales, entre otras.

HAGAMOS FOCO EN ALGUNAS DE LAS SOLUCIONES VALORADAS MÁS UTILIZADAS EN EL LABORATORIO DE HISTOTECNOLOGÍA: LAS SOLUCIONES PORCENTUALES Y LAS SOLUCIONES MOLARES.

SOLUCIONES PORCENTUALES. Existen 3 tipos de soluciones porcentuales, porcentuales en peso, en volumen y peso en volumen. La primera hace referencia a la masa de soluto en gramos que se encuentra disuelta en 100 gramos de solvente y por ello se denomina porcentaje peso en peso (%P/P). La segunda hace referencia al volumen de soluto diluido en un volumen final de 100 mL de solvente y por ello se denomina porcentaje volumen en volumen (%V/V). La última es quizás la más utilizada en los laboratorios y hace referencia a la masa de soluto en gramos disuelta en 100 mL de solución y por ello se denomina porcentaje peso en volumen (%P/V). Los cálculos para preparar este tipo de soluciones no admiten demasiados desafíos.

SOLUCIONES MOLARES. Son quizás las más utilizadas en los laboratorios. Molaridad hace referencia a los moles de soluto disueltos en 1 litro de solución. ¿Qué es un mol? Un mol es la unidad con que se mide la cantidad de sustancia.

UNA DOCENA DE IONES CONTIENE 12 IONES. UN CENTENAR DE ÁTOMOS CONTIENE 100 ÁTOMOS.
UN MOL DE MOLÉCULAS CONTIENE $6,02 \times 10^{23}$ MOLÉCULAS.

La masa de un mol de sustancia, llamada masa molar, es equivalente a la masa atómica o molecular (según se haya considerado un mol de átomos o de moléculas) expresada en gramos. Para obtener la masa molar nos valemos de las masas atómicas de los elementos presentes en la tabla periódica.

Los cálculos para preparar este tipo de soluciones representan un pequeño desafío dado que de la concentración molar (M) nos informa los moles necesarios para preparar un litro de solución, pero un mol no es una unidad pesable, por lo que debemos transformar los moles en unidades de masa, para así pesar una determinada cantidad de soluto y preparar la solución. Consideremos la preparación de una solución 0,05M de Na_2CO_3 .

$$\text{MOLARIDAD} = M = \frac{\text{MOL DE SOLUTO}}{\text{LITRO DE DISOLUCIÓN}}$$

Si queremos preparar 500 mL Solución 0,05M Na_2CO_3 : Lo primero que hacemos es descomponer la información que existe en 0,05M. En 1000 mL están disueltos en 0,05 mol de Na_2CO_3 , entonces ¿cuántos mol de Na_2CO_3 estarán disueltos en 500 mL, que es el volumen de solución a preparar?

$$\begin{array}{rcl} 1000 \text{ mL} & \text{_____} & 0,05 \text{ mol de } \text{Na}_2\text{CO}_3 \\ 500 \text{ mL} & \text{_____} & x=0,025 \text{ mol de } \text{Na}_2\text{CO}_3 \end{array}$$

El siguiente paso consiste en transformar esos 0,025 mol en una cantidad pesable. Para ello necesitamos la masa molar del carbonato de sodio. Utilizando la tabla periódica determinamos que la masa molar del carbonato de sodio es 106 g/mol.

$$\begin{array}{rcl} 1 \text{ mol de } \text{Na}_2\text{CO}_3 & \text{_____} & 106 \text{ g} \\ 0,025 \text{ mol de } \text{Na}_2\text{CO}_3 & \text{_____} & x= 2,65 \text{ g} \end{array}$$

PESAR 2,65G DE Na_2CO_3 , DISOLVERLO, AJUSTAR LA ACIDEZ (DE SER NECESARIO), ENRASAR Y ALMACENAR.



CONCLUSIONES:

Al preparar soluciones, es importante saber que existe un protocolo común a todos los laboratorios, este protocolo es realmente útil para preparar soluciones de concentración exacta. Sin embargo, es necesario tener en cuenta que existen otras formas alternativas para su preparación. La elección del protocolo a utilizar, dependerá del fin práctico de la solución preparada. Por ello, antes de preparar una solución debemos preguntarnos ¿para qué preparamos la solución? ¿Cuál será su uso en el tiempo? ¿Cuánto preparamos? ¿Dónde la almacenamos? Responder estas simples preguntas y el seguimiento de un protocolo establecido (que puede ser único para cada laboratorio) para la preparación de soluciones nos ahorrará mucho tiempo y nos evitará malestares a la hora de analizar resultados y sobre todo, nos quitará de la ecuación una variable muy común en los laboratorios que es el error en la preparación de las soluciones.

A



B



Figura 1. ¿Dónde pesar los materiales? A) Existen diferentes balanzas y diferentes elementos para pesar materiales. En la figura se observa de izquierda a derecha una balanza digital común, una balanza analítica digital, una balanza analítica analógica y una balanza clásica o de cruz. Las balanzas más utilizadas son las analíticas. B) Los recipientes más utilizados son los vidrios de reloj, las placas de Petri y el papel de aluminio.

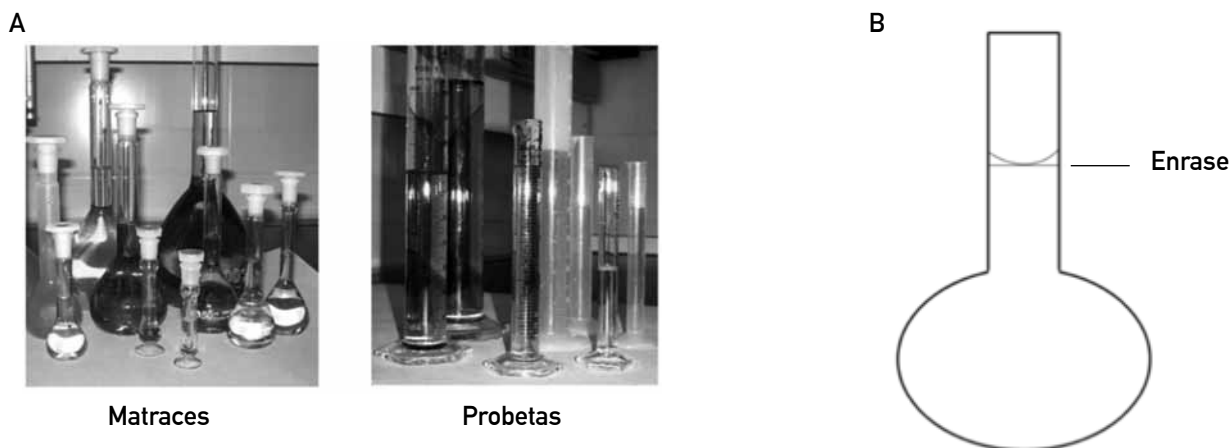
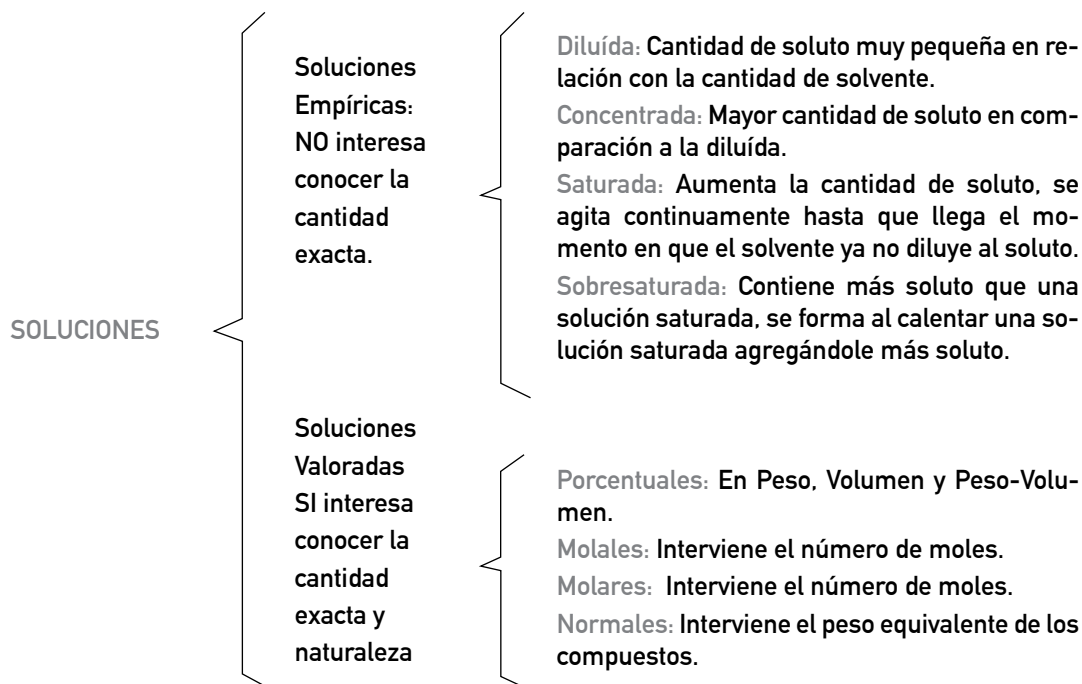


Figura 2. Elementos para preparar soluciones. A) Matraces y probetas. Los matraces son utilizados para preparar soluciones de concentración exacta. Las probetas, en cambio, admiten un margen de error en la concentración de la solución preparada. B) Esquema mostrando cómo debe enrasarse en un matraz aforado (válido para cualquier tipo de enrase). Para la mayoría de las soluciones preparadas en los laboratorios, el menisco debe quedar tangente al aforo. Existen algunas excepciones cuyas aplicaciones escapan al alcance de este artículo.

Cuadro 1. Clasificación de las soluciones. Las soluciones pueden ser clasificadas según se conozca o no su concentración. En las soluciones empíricas, no interesa conocer la cantidad exacta de soluto disuelta en el solvente. Mientras que en las soluciones valoradas, la cantidad exacta y la naturaleza del soluto deben ser exactamente conocidas.





CARRERAS

- Cardiología y Electrofisiol. R.M. 1353/07
- Diagnóstico por Imágenes R.M. 1353/07
- Histopatología Disp. 0500/04
- Ortopedia y Traumatología Disp. 0500/04
- Radiología Industrial R.M. 1353/07
- Radiología Veterinaria R.M. 1353/07
- Técnico Superior en Genética
- Técnico Superior en Seguridad, Higiene y Medio Ambiente en el Trabajo

POSTGRADOS

- Licenciatura en Tecnología Médica
Disposición 1353 / 07 – 0251 / 06 y R. M. 1353 / 07 para el Título de Técnico Superior en Diagnóstico por Imágenes o títulos equivalentes.
- Actualización en Diagnóstico por Imágenes
- Especialización en Diagnóstico por Imágenes

AÑO 2015 - CURSADO PARA IDONEOS EN HISTOTECNOLOGIA

El Instituto Superior de Tecnología Médica anuncia la posibilidad de hacer una nueva y última edición del cursado de normatización para técnicos idóneos en histotecnología que posean tres años de experiencia laboral comprobable. El dictado tiene por finalidad la obtención del título de Técnico Superior en Tecnología Médica con orientación en Histopatología y contará con una modalidad semipresencial con la utilización de videoconferencias, lo cual permitirá el cursado desde distintos puntos del país.

Informes: Susana Feroldi

Teléfonos: (54) (341) 4300354 / 4353135 Int.135
sferoldi@istm.edu.ar

ISTM Instituto Superior de Tecnología Médica
Francia 330 - Rosario - Argentina - Tel. +54 341 4300354 / 4353135 - 5681044 / 43
www.istm.edu.ar - info@istm.edu.ar

Biopack



Productos Químicos

Biopack® cuenta con una equipada y moderna planta de más de 2000 m² En donde se elaboran, bajo los más estrictos controles de calidad, las siguientes líneas de productos:

- 💧 Insumos para seguridad y limpieza
- 💧 Insumos para congelaciones
- 💧 Soluciones fijadoras
- 💧 Insumos para procesamiento de tejidos
- 💧 Productos para desparafinado, deshidratación e hidratación de cortes
- 💧 Soluciones descalcificantes
- 💧 Tinciones especiales
- 💧 Montaje de preparados histológicos
- 💧 Reactivos para tinciones en general
- 💧 Tinciones de rutina de citología e histología



Your Chemical Support

Oficinas Comerciales:

Dirección: Av. Díaz Vélez 4562
Capital Federal - CP 1405 -
Argentina

Teléfono: +54 (11) 4958-1448
Fax: +54 0800-222-9520

Atención: 9-17 hs.



Planta Industrial:

Dirección: Ruta 9 km. 105.5 -
Zárate - Bs.As - Argentina

Atención: 9-17 hs.

sitio web: www.biopack.com.ar

e-mail: info@biopack.com.ar



SOLUCIONES PARA **PATOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR APLICADA**

ANATOMÍA PATOLÓGICA IHQ



- **ANTICUERPOS PRIMARIOS**

Policlonales y Monoclonales en ratón y conejo concentrados (0.1, 0.5 y 1 ml)
Prediluidos listos para usar (1 y 7 ml)

- **SISTEMAS DE DETECCIÓN PARA IHQ**

HRP Detection System: Avidina Biotina HRP
Hi Def. Sistema Polimérico

- **REATIVOS ACCESORIOS**

Trilogy: HIER. Permite tres pasos de Pretratamiento: Desparafina, rehidrata y desenmascara.
Diluyente de anticuerpos, buffers, substratos, proteasas, bloqueantes, medios de montaje y controles

HIBRIDACIÓN IN SITU FLUORESCENTE FISH



- **PRUEBAS DE TUMORES SÓLIDOS**

Incluye rangos de: TOP2A, HER2, C-MET, N-MYC, MALTI, EWSR1

KITS PARA MUTACIONES POR REAL TIME PCR



- **MUTACIONES DE K-RAS, BRAF Y EGFR**

Paso 1. Biopsia del tumor
Paso 2. Extracción de ácido nucleico (QIAamp DNA, FFPE Tissue Kit 56404)
Paso 3. ARMS. Amplificación selectiva de la secuencia target
Paso 4. Scorpions. Señal fluorescente, presencia de la mutación



Rotor-Gene® Q

EQUIPAMIENTO



- **MICRÓTOMOS. CRIÓSTATOS. PROCESADORES DE TEJIDOS**

estomba 964 . c1427cov
capital federal . argentina
tel. 54 11 4555 0010
tel. 54 11 4859 5300
fax 54 11 4553 3331
ventas@tecnolab.com.ar
www.tecnolab.com.ar



ISO 9001:2008

tecnolab