

TINCIÓN TRICRÓMICO DE MASSON

Tinción para diferenciar el tejido conectivo (colágeno) del tejido muscular y citoplasma. La aplicación principal es el diagnóstico de fibrosis, cirrosis hepática, diferenciación de tumores de músculo liso vs. conectivo.

Protocolo:

1. Desparafinar:

- Xilol 5 min
- Xilol 5 min

2. Hidratar:

- Etanol 100% 3 min
- Etanol 100% 3 min
- Etanol 96% 3 min
- Etanol 70% 3 min
- Agua destilada corriendo 5 min.

3. Hidratar: Solución de Bouin a 56° C durante 15 min.

4. Lavar: agua del grifo (ir cambiando el agua 3 veces y en el cuarto cambio dejar 5 min).

5. Hematoxilina férrica de Weigert 10 min.

6. Lavar: agua del grifo (ir cambiando el agua 3 veces y en el cuarto cambio dejar 5 min).

7. Fucsina ácida Biebrich-Scarlet 1 min 30 segundos.

8. Lavar: agua del grifo (ir cambiando el agua 3 veces y en el cuarto cambio dejar 5 min).

9. Solución Acido fosfotúngstico - Acido fosfomolibdico 10 min.

10. Azul de Anilina 6 min. Filtrarlo antes de usar.

11. Lavar: agua del grifo (ir cambiando el agua 3 veces y en el cuarto cambio dejar 5 min).

12. Solución al 1% de Ácido acético glacial en miliQ 1 min.

13. Lavar: agua del grifo (ir cambiando el agua 3 veces y en el cuarto cambio dejar 5

min).

14. Deshidratar:

- Etanol 96% meter y sacar.
- Etanol 96% 3 min
- Etanol 100% 3 min
- Etanol 100% 3 min

15. Montaje:

- Xilol 5 min.
- Xilol 5 min.
- Montaje de los portas con Micro-Mount. Dejar secar O/N.
- Limpiar exceso de medio de montaje con cuchilla y Etanol 70%.

- Si los cortes son de criostato, sacar los portas del -80° y dejar 2h a RT y empezar en el H₂O anterior al paso 3.

Preparación de reactivos:

➤ Hematoxilina férrica de Weigert:

Preparar la solución de trabajo mezclando en proporción 1:1 las soluciones A y B.

➤ Solución Acido fosfotúngstico - Acido fosfomolibdico:

Preparar la solución de trabajo mezclando en proporción 1:1:2 ácido fosfomolibdico : ácido fosfotúngstico : miliQ. Agitar antes de usar.

Referencias:

Solución de Bouin (Merck): ref. HT10132

Hematoxilina férrica de Weigert (soluciones A y B) (Merck): ref. HT10-79

Fucsina ácida Biebrich-Scarlet (Sigma-Aldrich): ref. HT151-250ml

Ácido fosfomolibdico (sal) (Merck): ref. 79560

Ácido fosfotúngstico (sal) (Merck): ref. 79690

Azul de anilina (Merck): ref. B8563

Resultados:

- ✓ Núcleos: negro o azul oscuro o marrón (hematoxilina férrica).
- ✓ Citoplasma, queratina, fibras musculares y eritrocitos: rojo intenso (fucsina ácida).
- ✓ Colágeno / Fibras conectivas y reticulina: azul (azul de anilina).