

### Comunicación corta

## Tinción de May-Grunwald Giemsa en células peritoneales de rata incluidas en resina sintética.

J. SANABRIA, A. OTERO Y M. C. DE LA ROSA

Dpto. Biología Celular, Centro Nacional de Investigaciones Científicas,  
Ciudad de la Habana, Cuba

Recibido: 11 de diciembre de 1980

**ABSTRACT.** A Modification of Maxwell's technique for semithin cuts has been described in order to allow the May-Grunwald Giemsa stain in rat peritoneal cells embedded in Araldite. Staining times were adapted to the actual conditions.

**RESUMEN.** Se modificó la técnica de Maxwell de tinción en cortes semifinos de Araldita para la coloración con May-Grunwald Giemsa. Los tiempos de coloración fueron adaptados a las nuevas condiciones técnicas.

### INTRODUCCION

Existen varios reportes sobre métodos para colorear células y tejidos incluidos en resinas sintéticas *Gorychi, 1978; Böck y Osterkomp, 1978; Maxwell, 1978*). En algunos se aplica el colorante directamente sobre la preparación y en otros se realiza una desresinación previa a la tinción. En cortes semifinos de material biológico incluido en Araldita o Epon, comúnmente se practica la técnica de coloración Azul de Toluidina y mediante la metodología de Maxwell (1978) se pueden realizar otras técnicas de tinción, pero no ha sido reportada la coloración de May-Grunwald Giemsa, que ha sido el objetivo de este trabajo.

### MATERIAL Y METODO

Células obtenidas de la cavidad peritoneal de ratas Wistar fueron estimuladas intraperitonealmente con diversos agentes:

Medio tioglicolato de sodio 2,95% —Oxoid—, Solución de glucógeno de Ostra-Sigma 0,1% en NaCl 0,85%, aceite de parafina (Merck), solución salina fisiológica de NaCl 0,85% y medio condicionado de células "L" (*Otero y cols. 1981*).

Se procesaron según la metodología de inclusión en Araldita, después de una fijación en Glutaraldehído al 3,2% durante 60' a 4°C en tampón caco-dilato 0,1 M (pH 7,4, 330 mOsm), tetraóxido de osmio al 2% en el mismo tampón durante 60' a 4°C y postfijación en acetato de uranilo al 2% en etanol 70% durante 60' a 4°C.

A los bloques polimerizados en estufa de 60°C se les practicaron cortes semifinos de  $1\mu$  mediante cuchilla de vidrio en un ultramicrotomo LKB Ultrotome III. Los cortes obtenidos se colocaron en una gota de agua sobre un portaobjeto de vidrio y se dejaron adherir a la superficie del mismo colocando el portaobjeto sobre una placa caliente.

La extracción de la resina se realiza según la técnica de Maxwell (1978), pero los pasos de oxidación de los cortes previos a la tinción fueron obviados debido a la no obtención de resultados cuando se aplica la tinción de May-Grünwald Giemsa.

Después de muchas pruebas, los tiempos de coloración fueron de 2,5 minutos para el May-Grünwald; 2 minutos de lavado en agua tamponada y 4 minutos en Giemsa.

## RESULTADOS

Como se puede apreciar en la microfotografía óptica las células corresponden fundamentalmente a mononucleares (M) y algunos polinucleares eosinófilos (P).

Mediante esta técnica se pueden apreciar fácilmente los linfocitos y macrófagos (como mononucleares) ya que la técnica de cortes semifinos en sí, impide una buena distinción entre estos tipos de células sobre todo cuando los cortes pasan paralelos al ecuador y cercanos a la superficie celular. Los polimorfos se distinguen por sus núcleos y las granulaciones citoplasmáticas, en los eosinófilos estas granulaciones aparecen de color marrón. Las células cebadas aparecen sumamente granuladas, de color azul intenso o violeta y en ellas se puede apreciar su pequeño núcleo. (Fig.)

## CONCLUSIONES

Se puede aplicar la tinción de May-Grünwald Giemsa a cortes semifinos incluidos en Araldita, realizando previamente un reajuste en la técnica de extracción de la resina y eliminando los pasos de la oxidación previos a la tinción para este material biológico.

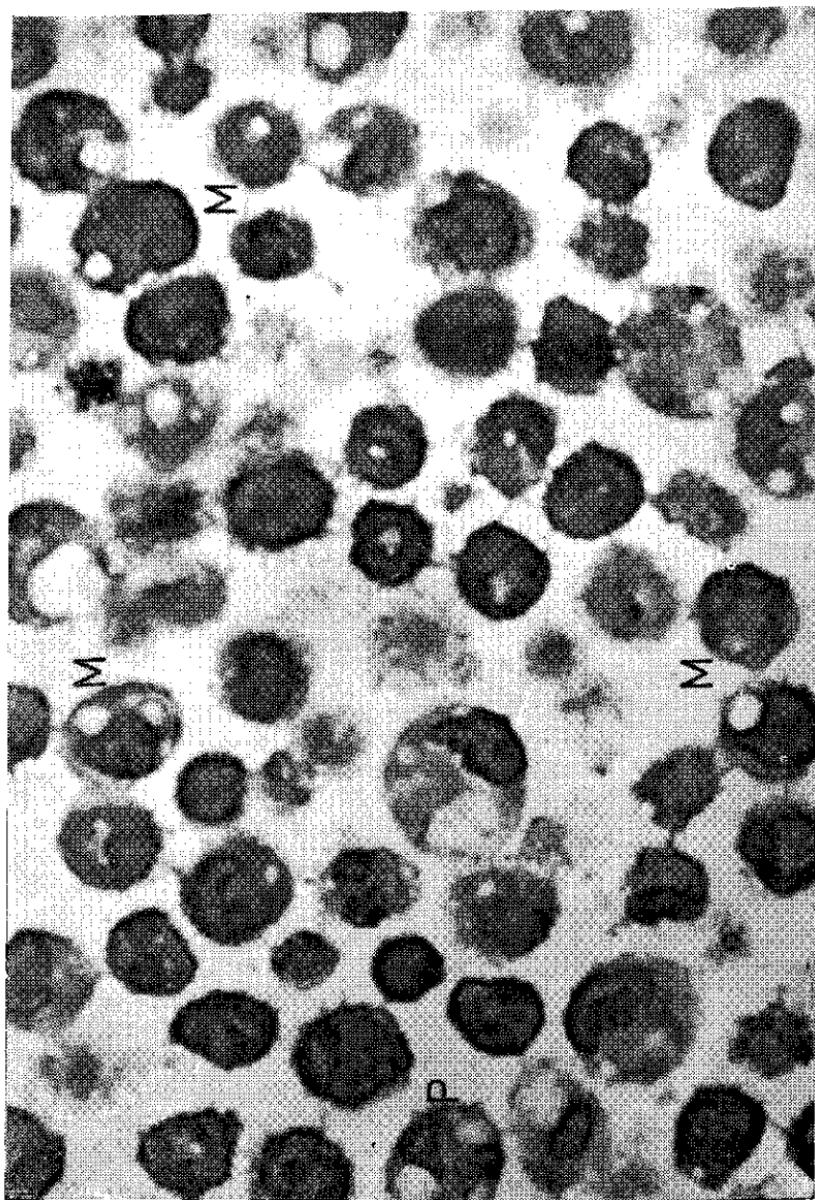


Fig.

## REFERENCIAS

- BÖCK P. AND OSTERKAMP U. Improved staining methods for PAS- positive material andrenin granules in semithin section of Araldite embedded tissue. *Mikroskopie (Wien)* 34, 330, 1978.
- GORYCHI M. S. An efficient staining methods for ultrathin section. *Stain Technol.* 53, 11, 1978.
- MAXWELL M. H. Two rapid and simple methods used for the removal of resins from 1,0  $\mu$  thick epoxy sections. *J. Microscopy* 112, 253, 1978.
- OTERO A. SANABRIA J. G., DE LA ROSA M. C. Estudio de la composición y ultraestructura del exudado peritoneal de ratas tratadas con diferentes estimulantes. *Revista CENIC, Ciencias Biológicas*, 2, 119, 1981.