

Comunicación breve

MODIFICACIÓN DE LA TÉCNICA DE INCLUSIÓN EN PARAFINA DE JOHANSEN

Cristina Dizeo de Strittmatter*

*CEFYBO, Técnica Profesional Principal del CONICET. Serrano 665 (1414) Buenos Aires. República Argentina. Correo electrónico: cristinadizeo@hotmail.com

Resumen

La modificación a la Técnica de inclusión en parafina de Johansen propuesta tiene tres ventajas: la reducción de tiempos de procesamiento, la eliminación del etanol absoluto y las mezclas de xilol: etanol; se minimizan así los riesgos sanitarios y ambientales que produce la utilización de xilol, al ser reemplazado por el terbutanol.

JOHANSEN'S PARAFFIN INCLUSION TECHNIQUE MODIFICATION

Summary

Johansen's paraffin inclusion technique modification here proposed, shows three advantages: the processing times reduction, the elimination of absolute ethanol and xylol: ethanol mixings; therefore, environmental and sanitary risks originated in xylol use are minimized, when replaced by terbutanol.

Introducción

Las técnicas de inclusión en parafina son ampliamente usadas para estudiar los tejidos animales y vegetales. En estas técnicas se emplean, generalmente, hidrocarburos altamente tóxicos como el xilol, benzol o toluol.

Johansen (1940) utilizó terbutanol (un alcohol terciario poco polar, soluble en agua, que disuelve la parafina) como clarificante, en reemplazo del xilol. Este cambio mejoró la técnica. El uso del terbutanol como deshidratante y solubilizante de la parafina en distintas mezclas, propone una modificación de la técnica que se emplea habitualmente.

Palabras clave: terbutanol - inclusión en parafina - coloración.

Key words: terbutanol - paraffin inclusion - coloration.

Método

La técnica comienza con la deshidratación de los materiales en alcoholes etílicos de graduación crecientes. El tiempo que los materiales permanecen en estos alcoholes está relacionado con el tamaño de los materiales y sus estructuras anatómicas, y con la graduación alcohólica con que se comience la deshidratación.

Material fijado en FAA

Cuando el material está fijado en Formol-Alcohol-Ácido Acético (FAA), se comienza con un alcohol 70°, el gradiente alcohólico del FAA, y se continúa con alcoholes ascendientes (80°, 90°, 96°).

Material fijado en solución acuosa

Si el material estuviera fijado en una solución acuosa, se recomienda comenzar la deshidratación con un alcohol 25°, para seguir luego con alcoholes 50°, 70°, 80°, 90° y 96°.

A partir del alcohol 96° se pasa directamente al empleo de terbutanol puro durante 24 horas. Para asegurar la penetración y la deshidratación total en los tejidos, se realizan sucesivos cambios de terbutanol. El tiempo del proceso no varía con el tamaño de los materiales empleados.

Posteriormente, se deja un tercio del contenido de terbutanol en el recipiente que contiene la inclusión, y se le agrega parafina usada; luego se lleva a estufa a 60 °C durante tres horas como mínimo, y hasta 12 horas como máximo.

Luego, se cambia la inclusión a parafina usada por espacio de 12 horas, y a continuación, se lleva a parafina pura durante 12 horas.

Estos tiempos pueden ser variados o modificados —dentro de los parámetros mencionados— de acuerdo con las necesidades del operador, del material, o de ambos.

Síntesis de la metodología desarrollada

Fijación	FAA u otro fijador durante 48 horas como mínimo.
Deshidratación	En la serie de alcoholes etílicos (70°-90°-96°) o (25°-50°-70°-80°-90°-96°) durante 24 horas cada uno, de acuerdo con el material.
Solubilización	Terbutanol puro, con sucesivos cambios.
Infiltrado en parafina	Terbutanol, 3 partes; parafina (usada), 1 parte — 2 a 3 horas. Parafina usada — 2 a 3 horas. Parafina pura — 12 horas. En esta fase de la técnica, el material debe estar en estufa a 60 °C.
Inclusión	El material se coloca en un bloque.

Conclusiones

La modificación de técnica que se propone es recomendable porque reemplaza el alcohol absoluto y el xilol (altamente tóxico) en todos sus pasos y, además, demanda menos tiempo.

En las figuras 1, 2 y 3 se puede observar que no hay diferencias perceptibles en los resultados, puesto que los tejidos responden adecuadamente a la técnica modificada; además, las coloraciones efectuadas sobre las inclusiones con esta técnica no alteran los resultados.

Figura 1.-

Semilla de *Prunus persica*.
Tratamiento de inclusión:
parafina-xilol, y coloración
de safranina-verde rápido.

Figura 2.-

Semilla de *Prunus persica*.
Tratamiento de inclusión:
parafina-Hemo De,
y coloración de
safranina-verde rápido.

Figura 3.-

Semilla de *Prunus persica*.
Tratamiento de inclusión:
parafina-terbutanol,
y coloración de
safranina-verde rápido.

Referencia bibliográfica

Johansen, D.A. (1940). *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill, New York.

