

MODIFICAÇÃO DO MÉTODO TRICRÔMICO DE MASSON PARA COLORAÇÃO DE TECIDOS *

Evandro Pimenta de CAMPOS **
Antonio James BRANDI **
Adriana Manginelli MASSIGNANI **
Nilza BAPTISTA **
José Carlos ARMINANTE ***

RIAL-A/421

CAMPOS, E.P.; BRANDI, A.J.; MASSIGNANI, A.M.; BAPTISTA, N. & ARMINANTE, J.C. — Modificação do método tricrômico de Masson para coloração de tecidos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 77-80, 1975/76.

RESUMO: Os autores modificaram o método clássico de Masson para coloração de tecidos, eliminando algumas drogas de difícil aquisição no mercado interno, substituindo-as por outras mais facilmente encontradas. Na conclusão do trabalho, verificaram a exequibilidade do estudo proposto, obtendo uma modificação vantajosa no método, quanto à diminuição no tempo da execução, maior nitidez nas preparações histológicas e facilidade de aquisição das drogas. O Ponceau 2R foi substituído pelo Ponceau 3R, a hematoxilina de Regaud pela hematoxilina de Harris, com conseqüente eliminação do alúmen de ferro, do ácido pícrico, e não utilização do aquecimento.

DESCRITORES: Masson, modificação do método para coloração de tecido; coloração de tecido; histopatologia, coloração de tecido.

I N T R O D U Ç Ã O

Em virtude da constante dificuldade de aquisição de determinadas drogas importadas, propuzemo-nos a modificar o método clássico de Masson, para coloração de tecidos, eliminando alguns reativos e acrescentando outros de mais fácil aquisição em nosso meio. Para tanto, foram revistas as

técnicas usuais^{1, 2, 3, 4, 5, 6}. Estas modificações introduzidas não alteraram a característica tintorial dos tecidos.

MATERIAL

O material empregado neste estudo é constituído por fragmentos de tecidos diversos — pele, fígado, coração e tumores

* Realizado na Seção de Anatomia Patológica do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, S.P.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** Do Instituto Adolfo Lutz (falecido).

retirados durante necrópsias realizadas na Divisão de Patologia do Instituto Adolfo Lutz e de biópsias de várias procedências.

MÉTODO

Reagentes empregados

Fixadores

Formol a 10%
mistura de formol a 40% em água destilada (10:90) v/v

Bouin

Solução aquosa saturada de ácido pícrico 75,0 ml
Formol a 40% (v/v) 25,0 ml
Ácido acético glacial 5,0 ml

Corantes

Hematoxilina de Harris

Ponceau 3R

Fucsina ácida 0,3 g
Ponceau 3R 0,7 g
Água destilada 100 ml
Ácido acético glacial 1,0 ml

Azul de anilina

Azul de anilina solúvel em água 2,5 g
Água destilada 100 ml
Ácido acético glacial 2,0 ml

Nota: existem no comércio duas qualidades de azul de anilina; uma, solúvel em etanol e outra solúvel em água. Esta última é a que utilizamos em nosso trabalho.

Todas as soluções corantes mencionadas acima devem ser filtradas em papel de filtro.

Soluções diversas

Álcool ácido

Álcool a 70% 99,0 ml
Ácido clorídrico concentrado 1,0 ml
Ácido fosfomolibdico
Ácido fosfomolibdico 1,0 g
Água destilada 100 ml

Filtrar na hora de usar.

Ácido acético

Ácido acético glacial 1,0 ml
Água destilada 100 ml

TÉCNICA DE COLORAÇÃO

1. Xilol 5 min
2. Xilol 5 min
3. Álcool absoluto 5 min
4. Álcool a 95% 5 min
5. Lavar em água de torneira 1 min
6. Hematoxilina de Harris 5 min
7. Lavar em água corrente 1 min
8. Limpar a lâmina.
9. Diferenciar a lâmina em álcool-ácido (dois mergulhos rápidos).
10. Lavar a lâmina em água corrente da torneira 10 min
11. Corar a lâmina no Ponceau 3R 5 min
12. Lavar muito bem a lâmina em água destilada.
13. Diferenciar a lâmina e mordencá-la em ácido fosfomolibdico . 5 min
14. Colocar sobre a lâmina a solução azul de anilina 5 min
15. Lavar a lâmina muito bem em água destilada.
16. Colocar sobre a lâmina ácido fosfomolibdico 5 min
17. Colocar sobre a lâmina ácido acético glacial 5 min
18. Passar a lâmina em dois álcoois absolutos.
19. Enxugar bem a lâmina em papel de filtro com o corte voltado para baixo.
20. Xilol 2 min
21. Xilol 2 min
22. Montar em bálsamo do Canadá sintético dissolvido em toluol.

Para bom êxito desta coloração, as soluções e os corantes não devem ser reaproveitados; aconselhamos, portanto, que os mesmos sejam colocados sobre as lâminas.

RESULTADOS

Os núcleos apresentaram-se de cor azul arroxeado; o citoplasma, queratina, fibras musculares e fibras intercelulares, vermelho; colágeno e muco, azul.

CONCLUSÕES

Nesta coloração omitimos a mordenzagem pelo alúmen de ferro a 5%, substituímos a hematoxilina de Regaud^{2,3} e de Weigert⁴ pela hematoxilina de Harris, suprimimos a diferenciação pelo ácido pícrico alcoólico^{2,3,5,6}, substituímos o Ponceau de xilidíne ou Ponceau 2R^{2,3,5,6} pelo Ponceau 3R.

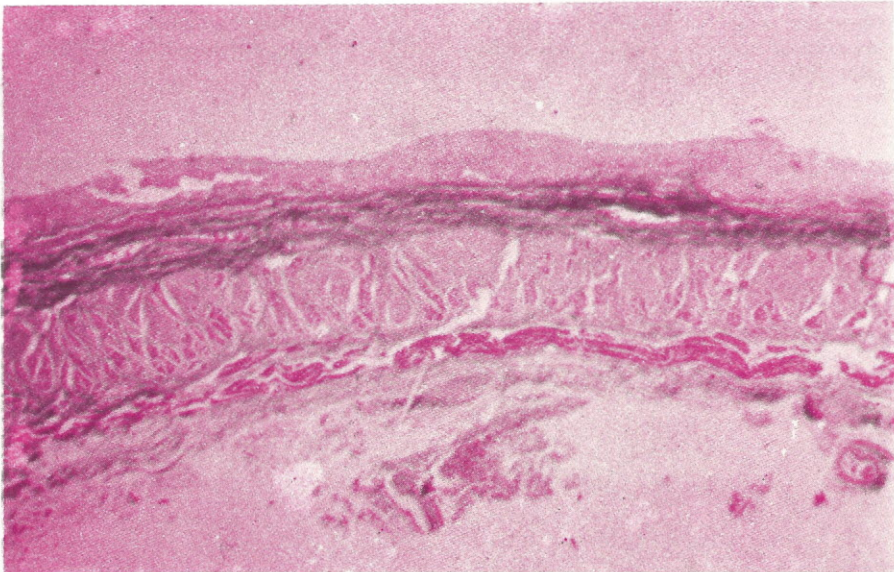
No decorrer da coloração notamos que o ácido fosfomolibdico necessita ser filtrado para que a lâmina se apresente nítida;

ele funciona não só como diferenciador do Ponceau, mas também como mordente do azul de anilina^{1,6}.

Introduzindo-se as modificações por nós descritas, obtêm-se as seguintes vantagens:

- a) evita-se o uso de drogas obsoletas;
- b) encurta-se o tempo de coloração;
- c) usa-se uma hematoxilina de fácil preparação e manuseio, a hematoxilina de Harris;
- d) usa-se o Ponceau 3R mais facilmente encontrado no comércio e que evidencia melhor as fibras.

As lâminas apresentaram-se bem nítidas destacando-se bem o citoplasma, a queratina, as fibras musculares e as fibras intercelulares, em vermelho bem intenso; o colágeno e muco, em azul bem forte e os núcleos, em um anzol arroxeado.



Corte de esôfago corado pelo método tricrômico de Masson modificado. Fibras musculares, coradas em vermelho; tecido conjuntivo, em azul; núcleos, em azul arroxeado.

RIAL-A/421

CAMPOS, E.P.; BRANDI, A.J.; MASSAGNANI, A.M.; BAPTISTA, N. & ARMINANTE, J.C. — Modification to the trichromic method of Masson for tissue staining. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 77-80, 1975/76.

SUMMARY: The classical trichromic method of Masson for differential staining of tissue elements was simplified by substitution of Ponceau 2R for Ponceau 3R and substitution of Harris'hematoxylin for Regaud's hematoxylin. Use of picrid acid, iron alumen and heating of solution's reagent was spared. The time spent in staining was appreciably reduced and appearance of tissue structures was improved. Repeated testing showed that the modifications proposed are feasible.

DESCRIPTORS: Masson's method for tissue staining, modification; staining, tissue; histopathology, tissue staining.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. COSTA, A.C. & CHAVES, P.R. — *Manual de técnica histológica*. 3.^a ed. Lisboa, Livr. Portugália, 1943. p. 206.
2. COWDRY, E.V. — *Laboratory technique in biology and medicine*. 2nd ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1943. p. 146-7.
3. DAVENPORT, A.H. — *Histological and histochemical technics*. Philadelphia, Saunders [c1960]. p. 245-6.
4. ESTADOS UNIDOS. Armed Forces Institute of Pathology. *Manual of histologic and special staining technics*. Washington D.C., 1957. p. 67-8.
5. HUMASON, G.L. — *Animal tissue techniques*. San Francisco, W.H. Freeman [c1962]. p. 152-3.
6. LILLIE, R.D. — *Histopathologic technic and practical histochemistry*. 3th ed. New York, McGraw-Hill [c1935]. p. 545-6.

Recebido para publicação em 25 de setembro de 1975.