

Instituto Español de Fisiología y Bioquímica
Sección de Fisiología General de Valencia
Director: J. García-Blanco

Tinción comparada de los eosinófilos sanguíneos con eosina amarilla y novosina

por M. González - Rey

(Recibido para publicar el 13 de marzo de 1953)

La coloración de estructuras celulares con tetrabromofenolsulfotaleína (novosina) estudiada en diversos trabajos de este mismo Laboratorio (3, 4, 5), ha planteado problemas acerca de su analogía con la eosina en lo que a su aptitud se refiere por ciertas estructuras de la célula. Uno de ellos surge de la marcada afinidad de la novosina por las granulaciones eosinófilas a las que tiñe de color azul intenso, hecho que permite practicar recuentos paralelos de eosinófilos para dilucidar si ambos colorantes (eosina y novosina) tiñen las mismas formaciones granuladas, y en este caso tendríamos en la novosina otro colorante para la tinción de eosinófilos en frotis, y especialmente para su recuento directo en cámara, de interés para la prueba de THORN, o si, por el contrario, las cifras resultantes de los recuentos fuesen tan predominantes en favor de uno de los colorantes que hubiese que admitir una diferencia química entre las granulaciones eosinófilas.

Material y métodos

Se ha utilizado como tipo de comparación la solución original de DUNGER (2):

Eosina	0'1 gramo
Acetona	10 c.c.
Agua destilada	100 »

Y como líquido de dilución objeto de estudio la misma fórmula substituyendo la eosina por novosina (novosina 0'1 gramo : acetona 10 c.c. y agua destilada 100 c.c. Ambas mezclas deben ser filtradas con frecuencia.

Como hemocitómetro se empleó la cámara de BÜRKER (0'1×3×3 mm.) con dos retículos y la de FUCHS-ROSENTHAL (0'2×4×4 mm.) también de dos retículos, y como pipetas las ordinarias de leucocitos, empleando siempre para cada caso la misma cámara y la misma pipeta y contando por lo menos las células de los dos retículos del bloque.

La sangre, con anticoagulante o sin él, fué diluída en todos los casos al 1 : 10 en cada uno de los líquidos de disolución. Los recuentos han sido efectuados dentro de las dos horas siguientes a la toma y se han eliminado aquellos que no alcanzaron 100 células por mm.³

No es recomendable hacer la toma de sangre en la yema del dedo sin anticoagulante porque con gran frecuencia se coagula, a pesar de actuar con rapidez, circunstancia que invalida los resultados.

Para la sangre oxalatada hemos empleado la fórmula de doble oxalato de DONATO (1) :

Oxalato potásico monohidratado	2 gramos
» amónico »	3 »
Agua destilada	1.000 »

Se evaporan en un tubo de hemólisis al baño de María 2 c.c. de solución hasta sequedad, para luego recoger en él 2 c.c. de sangre que queda oxalatada a 5 miligramos por 1 c.c.

Resultados

Con la mezcla de DUNGER los eosinófilos aparecen al cabo de unos tres minutos teñidos en rojo obscuro, casi castaño, sobre el fondo microscópico de color rojo claro. Los núcleos no se tiñen. Se ven con frecuencia algunos neutrófilos con finas granulaciones pardorrojizas al lado de otros que apenas se distinguen por su palidez.

Los leucocitos anfófilos del cobaya toman el colorante, pero pueden diferenciarse por la finura de las granulaciones.

Con la mezcla objeto de estudio, los eosinófilos se tiñen rápidamente, pues mientras se hace la mezcla en la pipeta y se carga la cámara, ya la tinción es óptima. Sobre fondo azulado claro, aparecen las células con sus núcleos sin teñir y afectando la forma de media luna, (que es la más característica) de anillo, de disco más o menos perfecto y algunas formas irregulares debido

a la fragmentación. Los gránulos aparecen teñidos en color azul obscuro intenso y brillante, por lo que las células, a nuestro juicio, son más fáciles de visualizar y diferenciar que con la eosina.

Los leucocitos anfófilos del cobaya también toman la novosina pero se tiñen en azul menos intenso, circunstancia que juntamente con la finura de las granulaciones permite diferenciarlos de los eosinófilos de gruesos gránulos y hacer el recuento de éstos sin dificultad.

A veces, como ocurre con la eosina, se observan neutrófilos teñidos, y aunque nunca intensamente, pueden inducir a confusión en las primeras observaciones. La dificultad se corrige disminuyendo la proporción de acetona o añadiendo unas gotas de solución de carbonato sódico al 10 %, como recomienda SPIRS (8).

Los glóbulos rojos de la rana no se hemolizan en las mezclas de acetona y el recuento de los eosinófilos no es posible.

Sangre humana capilar de la yema del dedo
Número de eosinófilos por mm³ (Cámara de BURKER)

Con novosina	Con eosina
288	322
166	100
316	295
350	344
161	177
177	172
200	234
193	187
<hr/>	<hr/>
Promedio : 231	Promedio : 228

Sangre de cobaya oxalatada tomada por punción cardíaca
Número de eosinófilos por mm³ (Cámara de FUCHS)

Con novosina	Con eosina
1.545	1.590
310	325
790	820
870	880
865	775
1.725	1.670
975	920
800	760
1.350	1.395

1.045	990
Promedio : 1.027	Promedio : 1.012

Sangre humana citratada tomada por punción venosa
Número de eosinófilos por mm³ (Cámara de BURKER)

Con novosina	Con eosina
200	194
200	177
177	177
178	238
166	144
177	144
233	237
211	190
150	155
116	105
200	177
100	105
161	161
200	189
283	328
272	272
288	239
189	178
166	166
116	100
Promedio : 189	Promedio : 183

Sangre humana oxalatada y sedimentada
Número de eosinófilos por mm³ (Cámara de FUCHS)

Con novosina	Con eosina
205	200
211	177
677	600
439	428
211	272
200	167
639	639
261	272
833	900

394	372
526	478
455	422
427	400
217	250
444	412
411	422
250	222
233	206
444	472
466	400
211	227
594	577
255	200
Promedio : 392	Promedio : 378

Discusión

Comparados los resultados obtenidos con ambas mezclas actuando en cada caso en las mismas condiciones, las cifras obtenidas ofrecen muy ligeras diferencias en favor de la novosina, lo que puede ser debido al azar, o tal vez a la mejor visibilidad de las células, lo que permite su identificación aun pasando con rapidez los campos microscópicos. De todos modos hay que deducir que la novosina tiñe las mismas estructuras que la eosina.

Nuestras cifras tienen poco valor como tasa fisiológica de eosinófilos en sangre circulante, pues como nuestro objeto era comparar los resultados de las dos mezclas, hemos seleccionado algunos casos con eosinofilia; en otros, la sangre se utilizó sedimentada y, por lo tanto, a mayor concentración, y además se han eliminado aquellos casos con menos de 100 células por mm³.

El promedio de eosinófilos en la sangre del cobaya resulta, según nuestros datos, inferior a la señalada por KLIENEBERGER (7).

Resumen

Se han hecho recuentos comparativos de los eosinófilos sanguíneos del hombre y del cobaya, con la mezcla de Dunger y la que es objeto de estudio, y se ha observado que la novosina tiñe las mismas granulaciones que la eosina amarilla, pero de un color azul intenso que facilita la visibilidad de las células, por lo que su empleo en los recuentos para la prueba de Thorn, puede ofrecer ligeras ventajas.

Summary

Comparative counts eosinophiles in man and guinea pig blood have been carried out with Dunger's mixture and with a novosine mixture.

Novosine stains the same granules as the Heidenhain iron-haematoxylin, but in a strong blue colour that makes easier to visualize the cells. It is suggested that this method may offer advantages for direct countings in Thorn's test.

Bibliografía

- (1) DONATO, R. A. y STRUMIA, M. M. : *Blood*, **4**, 10, 1952.
- (2) DUNGER : *Munch. med. Wchenschr.*, **57**, 1944.
- (3) GARCÍA-BLANCO, J. : *R. esp. Fisiol.*, **3**, 203, 206, 1947.
- (4) GARCÍA-BLANCO, J. y FORTEZA BOVER, G. .Nuevos métodos de coloración en Hematología, pág. 67. Editorial Sabater, 1948.
- (5) GRISOLIA, A. : Tesis Doctoral. Madrid, 1952.
- (6) HILLS : *Blood*, **3**, 755, 1948.
- (7) KLIENEBERGER : Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere Leipzig Verlag von Johan Ambrosius Barthi, 1927.
- (8) SPIRS, R. S. : *Blood*, **7**, 5, 1952.