

TECNICA HISTOLÓGICA

(2.^a NOTA)

por

ABELARDO GALLEGO

EL FORMOL ACÉTICO, AGENTE VIRO-FIJADOR Y DIFERENCIADOR DE LAS COLORACIONES OBTENIDAS CON LA FUCHINA BÁSICA. NUEVO MÉTODO DE COLORACIÓN REGRESIVA.

Tres han sido las modificaciones que hemos hecho en el método fundamental descrito en nuestra primera nota (Véase pág. 119): 1.º, en el procedimiento de fijación; 2.º, en el líquido de tinción, y 3.º, en el procedimiento de diferenciación.

Procedimiento de fijación. — Ante la necesidad de hacer diagnósticos rápidos, en los casos en que se nos suministraban productos de raspados de matriz o de excisiones de prueba, tuvimos que buscar un procedimiento de fijación más breve que el que consiste en el empleo del formol al 10 por 100. Y gracias a unas notas que nos proporcionó nuestro buen amigo, el Dr. Varela Radió, notas tomadas por él con la precipitación consiguiente, en un cursillo dado por el profesor Pick, en Berlín, tras de no pocos ensayos, logramos al fin nuestro propósito. • Obtuvimos una fijación perfecta operando así:

Fijación en alcohol de 80° (1), dos horas.

Idem en formol al 10 por 100, una hora.

Lavado en agua 10-30 minutos. Conservación, si se considera necesaria, en formol al 5 por 100.

Pero si este procedimiento de fijación da ya excelentes resultados operando a la temperatura ordinaria, todavía es posible mejorarlos, centuplicarlos, pudiera decirse, practicando la fijación en la estufa a 40°-45°. Y téngase en cuenta que esta modificación no introduce ninguna o casi ninguna complicación en la técnica del procedimiento, porque si no se dispone de estufa — y nosotros estamos *todavía* en este caso — no hay motivo para convertirse en Jeremías de laboratorio y perder lastimosamente el tiempo, lamentando no poder utilizar las ventajas de la fijación en caliente. En parecidas circunstancias no hay mejor tónico que recordar esta sentencia del sabio Cajal: «Para la obra científica los medios son casi nada y el hombre casi todo.»

Así, pues, si no se dispone de estufa a propósito, se inventa o, mejor dicho, se improvisa. ¿Cómo? con los utensilios siguientes:

1.º Una olla de hierro esmaltado, de 4-5 litros de capacidad.

2.º Una placa circular, de corcho o de madera, de uno o dos centímetros de espesor, y de un diámetro un poco menor que el de la olla. En dicha placa se practican, cerca del borde, cuatro o más orificios circulares del diámetro exterior de los frascos que han de contener el líquido fija-

(1) Este procedimiento de fijación sólo tiene un inconveniente que no podemos pasar en silencio, pues que, en ocasiones, constituye una dificultad de primera importancia, y es el de que los hematíes se destruyen fragmentándose en pequeñas granulaciones. Así, si se tiene interés en conservar los glóbulos rojos debe hacerse la fijación en formol al 10 por 100 solamente.

dor, y uno más pequeño, central, para sujetar el termómetro.

3.º Un trípode de hierro o de madera o, en su defecto, unos trozos de cualquier substancia, que permitan sostener la olla a una altura de unos 15-20 centímetros.

4.º Un recipiente cualquiera (un vaso de vidrio, un cristalizador, una taza de porcelana, etc.), en el que se echará agua y, sobre ésta, aceite de olivas, en tal cantidad, que forme una capa de dos centímetros de espesor, poco más o menos.

5.º Lámparillas de las llamadas mariposas, o, en todo caso, cerillas montadas sobre una lámina delgada de corcho.

Para operar con tales utensilios, tan fáciles de adquirir, se procede en esta forma:

La olla, montada o no, sobre el trípode, se llena casi completamente de agua; se hace entonces flotar sobre ésta la lámina de corcho provista ya del termómetro. Se calienta el agua con un mechero de gas, un hornillo de petróleo, una lámpara de alcohol, un quinqué, etc., hasta la temperatura de 40º-45º. En seguida se coloca la olla sobre el trípode, si es que ya no se ha hecho antes, y se adaptan a los grandes orificios de la lámina de corcho los frascos que contienen el líquido fijador y el producto que se quiere fijar. Debajo de dicha olla se pone el recipiente que lleva el agua y el aceite, sobre el que flota la lámparilla, ya encendida, de suerte que quede ésta a la distancia de unos 5-10 centímetros del fondo de la olla.

No operando en una habitación muy fría dos lámparillas bastan para sostener la temperatura del agua a 40º-45º; en todo caso, se emplearán más o menos lámparillas según la temperatura ambiente. Cada lámparilla consume 5 cc. de aceite por hora.

Líquido colorante. — En nuestro método fundamental

empleábamos la fuchina de Ziehl diluída al 1 por 10, en agua destilada. Pero, no en pocas ocasiones, advertimos que los cortes de tejidos que sometíamos a la acción de este colorante, quedaban demasiado teñidos, aunque la tinción se hiciese de un modo rápido— $\frac{1}{4}$ a $\frac{1}{2}$ minuto.— Además; cuando nos veíamos precisados a operar en otros laboratorios, no disponíamos, claro está, de la solución de fuchina de Ziehl que en el nuestro utilizábamos, pero sí de una solución de fuchina de Ziehl al 1 por 20, solución corrientemente empleada para la coloración de fondo en el método de Gram. Y a fin de no tener preparado un líquido colorante que sólo permitía una aplicación, optamos por hacer una serie de ensayos para lograr buenos resultados con la citada solución de fuchina de Ziehl diluída al 1 por 20 en agua destilada.

Pronto advertimos que la fuchina de Ziehl tiene una fuerza colorante muy distinta, según la manera de prepararla, y, para evitar dificultades, decidimos usar la fuchina de Ziehl de Grübler «Carbolfuchsin». No quiere esto decir que no pueda emplearse cualquier fuchina de Ziehl diluída en agua destilada al 1 por 20. Es más; es posible utilizar toda fuchina fenicada a condición de diluirla en agua hasta que dé un tinte que, salvo el matiz naranja, se asemeje, en cuanto a intensidad de color, al de la solución de picrofuchina de Van Gieson (solución acuosa saturada de ácido pícrico hecha en caliente, 100 cc.; fuchina ácida, 0,10 gramos) Recomendamos que si no se está práctico en la preparación de la fuchina de Ziehl es preferible utilizar la «Carbolfuchsin» de Grübler, que, sobre estar perfectamente elaborada, ofrece la ventaja de no ser necesario filtrar las soluciones que con ella se obtienen, lo que haría variar su poder colorante.

Nosotros, sin embargo, empleamos indistintamente la «Carbolfuchsin», de Grübler, y la fuchina fenicada de

Ziehl, preparada según técnica que ya hemos descrito en nuestro trabajo «Investigación del bacilo de Koch, etc.»

Es de notar, además, que mientras la solución madre — fuchina fenicada de Ziehl — es inalterable o, por lo menos, muy permanente, la solución diluída que aconsejamos pierde pronto su energía tintórea: por esta razón recomendamos que sólo se prepare la cantidad de colorante estrictamente necesaria (1).

La inobservancia de esta regla expone a muchos fracasos.

Para evitarlos con toda seguridad y para facilitar la preparación del colorante, procédase en esta forma: viértase agua destilada en un pocillo de tinciones (los pocillos medianos de porcelana contienen, estando llenos, 10 cc.) y añádase una gota de «Carbolfuchsin» por cada cc.; agítese la mezcla con una varilla de vidrio. Cada día o cada dos días prepárese nuevo líquido colorante.

Procedimiento de diferenciación. — En nuestro método fundamental confiábamos la diferenciación, esto es, la subtracción del colorante en exceso, subtracción que determina el contraste entre los diversos elementos anatómicos, al formol y a los alcoholes de 95° y absoluto; pero si bien en la mayoría de los casos, lográbamos nuestro objeto, en otros dejaba mucho que desear. Esto ocurría, sobre todo, cuando teñíamos cortes de tejidos sobrefijados en formol al 10 por 100. Aunque atenuado, nuestro método tenía el inconveniente que se observa en toda coloración progresiva, es decir, la dificultad de limitar la coloración a ciertos elementos y la uniformidad de tinte de todos los tejidos.

Se nos ocurrió entonces acentuar la diferenciación,

(1) Una solución que date de 15 días, ya tiene ciertos precipitados y tiñe debilmente.

pasando al agua acética los cortes que habían sido teñidos con la solución de fuchina básica, antes o después de lavados en agua. Pero, si bien lográbamos una diferenciación más acabada, luchábamos con la dificultad de tener que vigilar atentamente esta operación, y aun, a veces, a pesar de todo nuestro cuidado, la diferenciación era excesiva o insuficiente, según el tejido de que se tratase.

Intentamos también acidular con ácido acético la solución acuosa de fuchina fenicada, pero, aun consiguiendo mejores resultados, todavía no nos dimos por satisfechos.

Recurrimos asimismo a diferenciar con agua acética, después de la acción de la fuchina básica y el formol. Esta diferenciación tenía la ventaja de poder ser prolongada por cinco-diez minutos, pues que ya el formol había insolubilizado, hasta cierto punto, la fuchina.

Así y todo nos molestaba complicar nuestro método con una operación más, y nos decidimos por fin, a ensayar lo que debió ocurrírse nos desde el principio, esto es, intentamos la *viro-fijación* y diferenciación de la fuchina en un solo tiempo. Con razón ha dicho Cajal: «El hombre que plantea un problema no es el mismo que lo resuelve.» He aquí cómo procedimos: agregamos a la solución de formol al 5 por 100, cierta cantidad de ácido acético, y nos sorprendió, primero, la rapidez con que se operaba el cambio de coloración de los cortes del rojo al violeta, y, segundo, la perfección con que se hacía la diferenciación.

Desde este instante hicimos numerosos ensayos encaminados a determinar la cantidad de ácido acético que más pudiera convenir, modificamos también el título de la solución del formol y, por fortuna, en poco tiempo, logramos nuestro propósito.

La solución que nos dió mejores resultados fué la siguiente:

Solución de formol al 1 por 100 en agua destilada.. 5 cc.
Acido acético cristalizable. 1 gota

Una mayor concentración de la solución del formol no altera el resultado, pero es innecesaria.

Tampoco importa que, al agregar el ácido acético, se viertan dos o tres gotas, pero no son precisas. Para mayor sencillez, puede procederse así: en un pocillo de vidrio, viértanse 5 cc. de agua destilada; agréguese 1 gota de formol y otra gota de ácido acético; agítese la mezcla con una varilla de cristal y tápese en seguida para evitar la evaporación del ácido acético.

Por último; en casos rarísimos, aun operando con este rigor, no se obtiene una diferenciación perfecta, lo que pudiera ser un serio inconveniente para lograr después dobles, triples o cuádruples coloraciones; pero hay todavía un medio de llegar al resultado que se desea y es, hacer actuar, durante $\frac{1}{4}$ - $\frac{1}{2}$ minuto, sobre los cortes que salen de la fuchina y han sido lavados en agua, la siguiente solución, que hemos visto citada por Launoy:

Alcohol de 95°..... 100 cc.
Guayacol. 10 gramos

Luego, los cortes lavados en agua, son llevados al formol.

Pero, entiéndase bien; sólo en casos extraordinarios hay necesidad de hacer esta doble diferenciación.

Con nuestro método así modificado conseguimos admirables coloraciones regresivas — coloración por substracción (Heidenhain), preocupación tintorial (Unna) — en lugar de las progresivas que obteníamos con el método fundamental. Y es de notar que nuestro proceder se ajusta a las reglas a que están sometidas todas las coloraciones regresivas, a saber:

«1.^a Los colorantes preferibles son la hematoxilina y las anilinas básicas.

»2.^a Son recomendables las soluciones colorantes muy diluídas, porque, las muy concentradas coloran rápidamente y dan imágenes muy irregulares después de la diferenciación. La dilución favorece la disociación del colorante y su fijación sobre los tejidos.

»3.^a La diferenciación deberá ser practicada lentamente para ser regular.

»4.^a Es necesario algunas veces aumentar la colorabilidad de ciertos elementos por el empleo de mordientes (1).

»5.^a Los cortes han de ser delgados y de igual espesor, porque, en los gruesos, la extracción del colorante es muy difícil y en los de distinto espesor, los resultados no son uniformes.» (Langeron, *Precis de Microscopie* 1913.)

A propósito de esta última regla, hemos de decir que, con el microtomo de congelación que actualmente usamos (microtomo del Prof. Aschoff) se obtienen sin dificultad cortes de un espesor de 10 μ y hasta de 5 μ , y perfectamente uniformes, gracias a que, la admirable disposición de la pieza que fija la cuchilla, impide todo movimiento de oscilación de ésta; claro que con un poco de cuidado se logran también magníficos cortes con otros modelos de microtomos.

Pero, es más, nuestro procedimiento de diferenciación tiene, sobre sus similares, la gran ventaja de no exigir ninguna vigilancia por parte del operador, porque, cuando se hace la diferenciación con el formol acético — y éste es el caso general — se logra ésta en cinco minutos, o antes, y transcurrido este tiempo, aunque los cortes queden en

(1) Hasta ahora no hemos tenido necesidad de emplear ningún mordiente utilizando nuestro método de coloración regresiva.

el líquido diferenciador, durante horas o días, el resultado es siempre el mismo. Tan sólo la doble diferenciación con solución alcohólica de guayacol y con formol acético exige cierto cuidado, pues la coloración de la fuchina que no ha sido fijada mediante la acción del formol, desaparece rápidamente en la primera solución, y es preciso que la diferenciación no dure más de treinta segundos. Aun en este caso — y ya sabemos con qué poca frecuencia se presenta — como la diferenciación es muy electiva, se obtienen resultados constantes, y no exige la engorrosa operación de seguir la diferenciación al microscopio. ¶

Esta ventaja que acabamos de señalar estamos seguros de que será apreciada en su justo valor por los aficionados a los trabajos prácticos de Histología, pues bien saben qué parte tan activa toma el operador en la diferenciación, y cuán distintos resultados se obtienen al menor descuido.

En fin, como con nuestro procedimiento de diferenciación no queda en los cortes sino la cantidad mínima necesaria de colorante, las preparaciones, ya terminadas, tienen una apariencia de delgadez tal, que semejan dibujos ejecutados entre el porta y el cubre-objetos. Y esta última ventaja no es sólo aparente sino real, ya que permite el examen microscópico con gran ampliación.

Hemos insistido, quizá demasiado, en cuanto se refiere al procedimiento de diferenciación, por considerar que tiene una importancia práctica de primer orden, para lograr con perfección y seguridad dobles y triples coloraciones combinadas sucesivas, como demostraremos en otros trabajos que tenemos el propósito de publicar.

Hechas ya estas observaciones, expondremos con toda precisión, pero con el mayor laconismo posible, la técnica completa del método de tinción que actualmente utilizamos.

MÉTODO DE TINCIÓN CON LA FUCHINA BÁSICA Y EL FORMOL ACÉTICO. MÉTODO MODIFICADO: FUCHINA-FORMOL ACÉTICO:

1.º Fijación sucesiva en alcohol de 80º, dos horas, y formol al 10 por 100, una hora. Estufa a 40º-45º (si se tiene interés en conservar perfectamente los hematíes, hágase la fijación en formol al 10 por 100, durante 6-8 horas, por lo menos, y a 40º-45º. No conviene pasar de esta temperatura. Fijación y cocción son cosas distintas. Transcurridas las 6-8 horas, puede, y aun debe, dejarse actuar el formol al 10 por 100, pero a la temperatura del laboratorio.

2.º Lavado en agua: 10-30 minutos.

3.º Cortes por congelación.

4.º Tinción con fuchina fenicada de Ziehl («Carbol-fuchsin») diluída al 5 por 100 en agua destilada: 1 minuto. (En un pocillo de porcelana se vierte cierta cantidad de agua destilada y se agrega una gota de fuchina de Ziehl por cada centímetro cúbico. Agítese la mezcla con una varilla de vidrio. Para teñir intensamente las láminas córneas de los epitelios y para lograr excelentes coloraciones metacromáticas, prolónguese la tinción 5-10 minutos.)

5.º Lavado en agua ordinaria. (El agua que nosotros empleamos es poco rica en sales. Ignoramos si esta circunstancia influirá en el buen resultado de nuestro método.)

6.º Formol acético (solución de formol al 1 por 100, en agua destilada, 5 cc.; ácido acético cristalizable 1 gota): 3-5 minutos. (El formol acético puede ser preparado en el momento, agregando una gota de formol y otra de ácido acético por cada 5 cc. de agua destilada, y agitando la mezcla con una varilla de vidrio. Es conveniente que el formol acético esté siempre bien tapado, para evitar la

evaporación del ácido acético (1). Cuando se pretenda teñir intensamente las láminas córneas de los epitelios, y no se consiga, aun prolongando la tinción en la solución de fuchina, suprímase el ácido acético, y utilícese tan sólo el formol al 1 por 100.)

7.º Lavado por cualquier tiempo en agua ordinaria. (Para conservar las coloraciones metacromáticas, después de este lavado en agua, móntense las preparaciones en levulosa o en gelatina glicerinada. El alcohol altera las coloraciones metacromáticas.)

8.º Serie de alcoholes.

9.º Xilol fenicado (o esencias de clavo, orégano, bergamota o de Cayeput).

10. Montaje en bálsamo del Canadá.

Cuando la fuchina actúa durante un minuto — y éste es el caso general — los núcleos se tiñen en violeta obscuro; los protoplasmas en violeta muy pálido; la materia fundamental del cartílago, las granulaciones de las células cebadas Ehrlich y la mucina en violeta rojizo (en rojo puro cuando se montan los cortes en levulosa o en gelatina glicerinada); la materia amiloidea en rosa; el tejido muscular estriado en rosa; el muscular liso, en violeta pálido; el tejido conjuntivo en violeta extremadamente pálido o sin teñir; las láminas de queratina, en rosa débil o incoloras; los hematíes, en amarillo rojizo, si la fijación se hizo solamente con formol al 10 por 100, pero no se perciben, generalmente, por haberse destruído, si la fijación fué hecha con alcohol de 80º y formol al 10 por 100; las fibras de elacina en violeta obscuro; los microbios en violeta obscuro o en violeta rojo.

Si la acción de la fuchina se prolonga 5-10 minutos (no

(1) Si, aun operando así, la diferenciación no fuese perfecta — y esto muy rara vez ocurre — diferénciese antes, por 30 segundos, con solución alcohólica de guayacol al 10 por 100.

hay que temer la sobrecoloración) las sustancias cromotropas resultan más rojas; las fibras musculares estriadas aparecen de color rojo violáceo; las láminas queratinizadas en rojo ligeramente violeta.

La metacromasia se percibe mejor — como hemos observado repetidas veces — utilizando la luz artificial y haciendo pasar ésta por agua ligeramente teñida con azul de metileno o con sulfato de cobre (debe procurarse que el agua adquiera un color azul celeste) e interponiendo un vidrio azul en el portadiafragma.

De lo que precede se deduce que, si se tiene en cuenta el gran número de elementos que nuestro método revela, y la variedad de tonos que les hace adquirir, merece figurar entre los buenos métodos panópticos. No tiene, sin embargo, la característica química de estos últimos, pues que se prescinde en él de los colorantes neutros o anfocromos.

Como en el método fundamental, pueden teñirse previamente las fibras elásticas con orceína, que las colora en rojo moreno y destacan bien entre los demás elementos que quedan teñidos por la fuchina y el formol con matices muy distintos.

Un hecho curiosísimo hemos observado varias veces: en las preparaciones teñidas simplemente con la fuchina básica y el formol acético, y montadas en levulosa o en gelatina glicerizada, se perciben muy bien las fibras elásticas en color violeta.

Y como no es posible percibir las fibras en las preparaciones montadas en bálsamo del Canadá, es lógico suponer que se decoloran en los alcoholes. Lástima que tanto la levulosa como la gelatina glicerizada sean tan mediocres agentes conservadores. Nosotros, a pesar de cuantos esfuerzos hemos realizado, aun utilizando la levulosa preparada expresamente por la casa Merck, para micrografía,

jamás conseguimos conservar las preparaciones por mucho tiempo.

La tinción con nuestro método — fuchina-formol acético — admite una coloración previa de la grasa con el sudán III o con el rojo escarlata. En este caso, como es sabido, hay necesidad de montar las preparaciones en levulosa o gelatina glicerizada. Para la buena conservación de las preparaciones obtenidas con nuestro método de tinción — fuchina-formol acético — es de necesidad impedir que actúe sobre ellas la luz solar directa.

Hacemos esta advertencia porque, en todos los laboratorios, se acostumbra a dejar las preparaciones recientes sobre la mesa de trabajo, a pretexto de acelerar la solidificación del bálsamo del Canadá, y es frecuente que queden expuestas al sol por mucho tiempo. Innecesario es decir que esta perniciosa costumbre no tiene razón de ser, puesto que se corre el riesgo de perder admirables preparaciones, bien porque se rompan el porta o el cubre-objetos, o porque se llenen de polvo, o actúe sobre ellas cualquier substancia nociva, o, en fin, porque se decoloren. En el caso en que se desee la pronta solidificación del bálsamo del Canadá, lo mejor es colocar las preparaciones en la estufa, al abrigo de toda causa de deterioro. Y siempre que se tenga interés en conservar una preparación, en cuanto esté terminada, se guardará en una caja especial para este objeto, tomando la precaución, claro está, de que la preparación quede colocada horizontalmente y con el cubre-objetos hacia arriba.

Para terminar, diremos que nuestro método de tinción es perfectamente aplicable a la coloración de los microbios en las preparaciones obtenidas por frote.

En este caso, previa fijación con el calor, o con otro cualquier medio, se tiñe con fuchina de Ziehl diluída al 1 por 20, en agua destilada, durante $\frac{1}{2}$ -1 minuto; se lava

en agua corriente; se hace actuar el formol acético, 1-5 minutos; se lava de nuevo, se seca y se examina, o se monta previamente, según se dice (1).

Estamos convencidos de que las preparaciones así obtenidas son de una delicadeza muy superior a las que se logran con el azul de metileno, el azul de Unna, y aun con la tionina fenicada. Por tal motivo, *nosotros, para las tinciones corrientes de los microbios, sólo usamos dos sustancias colorantes: la fuchina básica en solución hidro-alcohólica fenicada — fuchina de Ziehl — diluída al 1 por 20, en agua destilada, para las coloraciones generales — fuchina-formol acético; — la fuchina de Ziehl, sin diluir, para la tinción específica del bacilo de Koch — fuchina (alcohol clorhídrico) — formol acético. El violeta de genciana, también en solución hidro-alcohólica fenicada — violeta de genciana fenicada de Nicolle — exclusivamente para teñir con el método de Gram. No vemos la necesidad de emplear otras materias colorantes. Procediendo así, hay la ventaja de la economía y de la sencillez en la técnica. La fuchina básica y el violeta de genciana son colorantes muy baratos. Las dos soluciones que con ellos se preparan — fuchina de Ziehl y violeta de genciana de Nicolle — se obtienen con facilidad y se conservan muy bien.*

En fin, si se quiere aplicar nuestro método de tinción para la coloración de las preparaciones de sangre, hágase la fijación en alcohol absoluto durante 5-10 minutos y tiñase con el método fundamental, esto es, empleando la solución acuosa de formol al 1 por 100, pero no el formol acético, que destruye los hematíes. Los hematíes se tiñen

(1) Los microbios se tiñen en violeta obscuro o en rojo ligeramente violáceo. Según nuestras observaciones, todavía muy poco numerosas, la coloración rojo violácea sólo la adquieren los microbios que no toman el Gram. No nos atrevemos, sin embargo, a considerar este hecho como ley general.

en rojo; los núcleos de los leucocitos en violeta; las granulaciones basófilas en rojo violáceo; las granulaciones neutrófilas y eosinófilas quedan sin teñir, pero las últimas, dada su gran refringencia, se perciben muy bien. Puede lograrse la coloración de las granulaciones eosinófilas, en rosa, haciendo una doble tinción con la eosina, en solución acuosa al 1 por 100 y dejándola actuar cinco minutos.

* * *

En resumen: nuestro método de tinción con la fuchina básica y el formol acético es sin disputa alguna el método más sencillo de cuantos se conocen.

Cualquier principiante lograría admirables preparaciones desde la primera vez que le ponga en práctica. ¡Ojalá sirva para acabar con este temor casi supersticioso que, tanto los médicos como los veterinarios, experimentan con sólo pensar en hacer una preparación histológica!

Queden sólo para los investigadores los métodos difíciles e inciertos.

CONCLUSIONES

El método histológico de tinción que aconsejamos — fuchina-formol acético — aplicable sobre todo a los cortes obtenidos por congelación, es preferible a nuestro método fundamental — fuchina-formol:

- 1.º Por la rapidez, seguridad y economía.
- 2.º Por la acabada diferenciación de todos los tejidos, lo que acrecienta la belleza y claridad de las preparaciones.
- 3.º Por permitir dobles y triples coloraciones sucesivas con colorantes ácidos.

Laboratorio de Histología. Escuela de Veterinaria de Santiago.