



GOIN

# memoria descriptiva

423940

CLASE DE REGISTRO

Una Patente de Invención, por veinte años en España.

NOMBRE Y NACIONALIDAD DEL SOLICITANTE

APPLIED BIOSCIENCE.

- sociedad de EE.UU.

RESIDENCIA Y DOMICILIO

Paterson, New Jersey 07509 (EE.UU.)  
93 Belmont Avenue.

OBJETO

" Procedimiento para la obtención de un fijador histológico. "

INVENTOR

Paul Terence WERTLAKE, James Steele HARRISON,  
- ambos estadounidenses -

PRIORIDAD

Solicitud U.S. Serial No. 338.732 del 7 de marzo de 1973.

PROHIBIDA LA REPRODUCCION Y CORTESIA



1 El presente invento se refiere a un proce-  
dimiento para la obtención de un fijador histológico para  
el uso en la preparación de muestras de tejidos para exámen  
microscópico. En el estudio microscópico e histoquímico de  
5 los tejidos, es una práctica común fijar el tejido antes de  
someter el mismo al seccionamiento por microtomía. Han si-  
do empleados varios métodos de fijación, dependiendo de la  
investigación particular, que se esté efectuando. La conge-  
lación del tejido o la inclusión del mismo en cera, es fre-  
10 cuentemente suficiente, pero los materiales son susceptibles  
de perderse, alterarse o moverse dentro de los tejidos. Se  
han usado para evitar estas dificultades varias mejoras, ta-  
les como la desecación por congelación utilizando un vacío  
o sustitución de hielo en la célula congelada por alcohol,  
15 pero con frecuencia son complicadas a gran escala. La uti-  
lización de técnicas químicas de fijación puede aplicarse en  
ciertos casos, pero carecen de amplia aplicabilidad.

El presente invento se relaciona con la ob-  
tención de un nuevo fijador histológico, que causa un daño  
20 mínimo a las células del tejido, es conveniente en el uso  
efectivo y puede emplearse con una amplia variedad de tipos  
de tejidos. En particular, el presente invento se refiere  
a una solución de ácido tricloroacético, cloruro de zinc y  
formaldehído, en un alcohol inferior acuoso. El alcohol in-  
25 ferior puede ser alguno de los bien conocidos alcoholes te-  
niendo de 1 a 4 átomos de carbono, como por ejemplo, meta-  
nol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol y los varios  
butanoles ramificados. Metanol es altamente satisfactorio

30



1 y preferido desde el punto de vista económico y de poder di-  
solvente. Aunque las cantidades, a las que se hará referen-  
cia aquí están basadas en alcohol puro, es evidente que pue-  
den emplearse alcoholes conteniendo varias cantidades de agua  
5 en la formulación del presente fijador, haciendo ajustes apro-  
piados en los volúmenes del alcohol y se añade agua adicio-  
nal.

10 El alcohol inferior acuoso tendrá una pro-  
porción de volumen de alcohol respecto al agua total desde  
alrededor 1:1 hasta alrededor de 1:3. Una proporción prefe-  
rida es de alrededor de 1:1,1 hasta alrededor de 1:5.

15 Disuelta en el alcohol acuoso está una mez-  
cla de ácido tricloroacético, cloruro de zinc y formaldehído.  
Una proporción de cloruro de zinc al ácido tricloroacético,  
en un fundamento de peso, es desde alrededor de 2:1 hasta al-  
rededor de 4:1. Una proporción de 3:1 es altamente satisfac-  
toria. La proporción de formaldehído respecto al ácido tri-  
cloroacético es de alrededor de 8:1 hasta alrededor de 10:1,  
siendo una proporción típica de 9:1.

20 El ácido tricloroacético, cloruro de zinc y  
formaldehído, están combinados en la mezcla y después se di-  
suelven en el alcohol inferior acuoso para procurar una so-  
lución final desde alrededor de 8 hasta alrededor de 20% de  
25 peso/volumen de la mezcla en el alcohol inferior acuoso. En  
el caso del formaldehído, es conveniente utilizar una solu-  
ción de formaldehído, como por ejemplo, la solución conven-  
cional de 37% de formaldehído y hacer ajustes apropiados en  
la cantidad del agua, que se añade. Una concentración final  
30 preferida es de alrededor de 10% de peso /Volumen del ácido



= 5

1 tricloroacético, cloruro de zinc y formaldehído en el alcohol inferior acuoso.

5 Aunque el orden de mezclado de los componentes individuales no es crítico, este mezclado va acompañado de una reacción exotérmica y, por lo tanto, debería aplicarse algún cuidado en esta preparación. Además, puesto que puede observarse en la solución final una pequeña cantidad de material insoluble, es deseable filtrar la solución una vez que se hayan mezclado los componentes.

10 La manera de utilizar este fijador histológico, es idéntica a la anteriormente empleada con fijadores químicos conocidos. Por lo tanto, el tejido, que debe examinarse, simplemente se sumerge en el fijador durante un breve período de tiempo, como por ejemplo, una o dos horas y después se extrae y elabora de la manera usual. El tejido que está fijado de esta manera, procura excelentes ejemplares al seccionar. Esto es cierto incluso con tejidos, tales como el tejido renal y el cerebral de los que se sabe que los ejemplares de muestra son difíciles de preparar.

20 El ejemplo siguiente demostrará un típico fijador histológico de acuerdo con el presente invento, apreciándose que las cantidades de los varios componentes pueden variarse dentro de los alcances expuestos.

25 EJEMPLO

30 Cuatrocientos gramos de cloruro de zinc se combinan con 120 gramos de ácido tricloroacético y 2,64 litros de formaldehído al 37% (correspondiente a 1.055 gramos de formaldehído al 100%) en 7,3 litros de metanol al 95%



1 (correspondiente a 7 litros de metanol al 100%) y 7 litros de  
agua. Ocurre una ligera reacción exotérmica y después de ha-  
ber alcanzado la solución de nuevo la temperatura ambiente,  
la misma se filtra y se coloca en un recipiente. Esta solu-  
5 ción, que está lista para el uso como fijador de tejido, corres-  
ponde a una solución de 9,8% de peso /volumen de ácido tricloro-  
roacético, cloruro de zinc y formaldehído, en que la propor-  
ción de peso de cloruro de zinc al ácido tricloroacético es  
de alrededor de 3,33:1 y la proporción de peso de formaldehi-  
10 do al ácido tricloroacético es de alrededor de 9:1, en metanol  
acuoso, en que la proporción de volúmen de alcohol al agua  
total (incluyendo la añadida separadamente, que estaba conte-  
nida en el metanol de 95% y aquella contenida en el formal-  
dehído al 37%) es de alrededor de 1:1,3.

15 Los fijadores histológicos del presente in-  
vento demuestran excelentes propiedades de difusión al efec-  
tuar la fijación y la lisis y todavía dejan el tejido fijado,  
suave y plegable.

20  
N O T A

25 La presente patente de invención, comprende  
las siguientes reivindicaciones:

1.- Procedimiento para la obtención de un  
fijador histológico, caracterizado porque se reúne una solu-  
ción de 8 a 20% de peso/Volúmen de un conjunto de ácido tri-



1 cloroacético, cloruro de zinc y formaldehído en un alcohol in-  
ferior acuoso, en que la proporción de peso de cloruro de  
zinc al ácido tricloroacético es desde alrededor de 2:1 has-  
ta alrededor de 4:1, la proporción de peso de formaldehído  
5 al ácido tricloroacético es desde alrededor de 8:1 hasta al-  
rededor de 10:1, y la proporción de volúmen de alcohol infe-  
rior al agua total es desde alrededor de 1:1 hasta alrededor  
de 1:3.

10 2.- Procedimiento, según la reivindicación  
1, caracterizado porque la proporción de cloruro de zinc al  
ácido tricloroacético es desde alrededor de 3:1 hasta alrede-  
dor de 3,5:1.

15 3.- Procedimiento, según las reivindicacio-  
nes 1 ó 2, caracterizado porque la proporción de peso de for-  
maldehído al ácido tricloroacético es de alrededor de 9:1.

4.- Procedimiento, según las reivindicacio-  
nes 1, 2 ó 3, caracterizado porque el alcohol inferior es  
metanol.

20 5.- Procedimiento, según la reivindicación  
4, caracterizado porque la proporción de volúmen de metanol  
al agua, es desde alrededor de 1:1,1 hasta alrededor de 1:1,5.

25 6.- Procedimiento, según las reivindicacio-  
nes precedentes, caracterizado porque la concentración de di-  
cha solución es desde alrededor de 9 a 11% de peso/volúmen.

30 7.- Procedimiento, según las reivindicacio-  
nes precedentes, caracterizado por una solución de 9,8 peso/  
volúmen de una mezcla de 3,3 partes de ácido tricloroacético

5 MAR 1974



1 pasando de 1 de cloruro de zinc y 9 partes de formaldehido en  
metanol acuoso, en que la proporción de volúmen de metanol al  
agua total, es de alrededor de 1:1,3.

5 8.- Procedimiento para la obtención de un  
fijador histológico.

Según se describe y reivindica en la pre-  
sente memoria descriptiva, la cual consta de seis hojas folia-  
das y escritas a máquina por una sola de sus caras.

10 Madrid, a

5 MAR 1974

CARLOS GONZALEZ  
P. P.

Fdo: Francisco del Pozo

15

20

25

30