

Universidad Nacional.—Facultad de Medicina.—Departamento de Parasitología.

TECNICAS DE PARASITOLOGIA EN LA ENSEÑANZA Y EN LA PRACTICA

(Texto en preparación).

SOLUCIONES, REACTIVOS Y COLORANTES (*)

Por el doctor *Alfonso Bonilla-Naar* (1).

Accite de Cedro.

Se consigue en el comercio. Hay que especificar si se desea para aclarar tejidos o para objetivos de inmersión. En este uso ha sido desplazado actualmente por el Nujol. (Crown Immersion Oil). Véase letra C. (Crown Immersion Oil).

(*) En el caso de soluciones simplemente técnicas y cuando las cantidades pasen del 10%, es necesario hacer las pesadas con cuidado y agregar el solvente hasta llegar a 100. Ej., KOH al 25% (KOH 25 gms. y agua 75 c. c.). Hay que anotar que algunas soluciones originales se conservan idénticas, la mayoría y modificadas, de acuerdo con la finalidad perseguida. Por esto, no están acordes los textos conocidos; aún en el caso de la solución salina normal, unos citan, 7%, otros 8.5% ó 9%. En este capítulo se dirá, en todo caso, lo estrictamente necesario. Sus usos se especificarán en los capítulos correspondientes. En esta lista alfabética prima el nombre propio de los autores. (Ej.: **Giemsa**, colorante de).

Capítulo publicado especialmente para los estudiantes del Curso de 1945. PROHIBIDA LA REPRODUCCION TOTAL. SIN LA AUTORIZACION EXPLICITA DEL DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA.

(1) El Autor, Ex-Preparador de Parasitología de Clínica Tropical, **Concurso**, 1939; Ex-Preparador de Parasitología de la Facultad de Medicina de Bogotá, **Concurso**, 1942; Jefe de Trabajos de Parasitología, **Nombramiento**, 1941-42, **Concurso**, 1945; Profesor Encargado de Cátedra, Parasitología, de Técnicos de Laboratorio Clínico, 1941-42, **Nombramiento**; Mjembro de la Sociedad de Biología y Medicina Tropical "Carlos Finlay", de La Habana, de la National Malaria Society, American Society of Parasitologists, etc. Estudios de especialización en Johns Hopkins University, School of Hygiene and Public Health. Baltimore.

Alcoholes. (Etilico, metílico, absoluto. etc.)

Aunque realmente el alcohol etílico comercial es de 96% para los efectos de la práctica se puede considerar de 95%.

Preparación de diferentes grados de alcohol a partir de alcohol de 95.

El principio es sencillo. Es un método aproximado, pero efectivo en las labores de la práctica diaria. Poner en la bureta graduada, alcohol de 95% hasta el número que corresponda al grado del alcohol deseado; agregar agua destilada hasta la marca 95. Ejemplo: Se quiere preparar un alcohol de 40%. Alcohol hasta la marca 40 c. c. agua destilada hasta 95.

¿Cómo hacer cuando se tengan alcoholes de diferentes grados? Tenemos un alcohol de 95 y otro de 75 y deseamos preparar alcohol de 80.

95% a 80% = 15 de diferencia. 15 volúmenes de 75 ó 3 partes.

FINAL (Se cruzan).

75% a 80% = 5 de diferencia. 5 volúmenes de 95 ó 1 parte.

Preparar para el uso corriente, alcoholes de 30, 50, 70 y 80%, en cantidades de 250 c. c.

Alcohol absoluto. No tiene prácticamente agua. Es un reactivo caro.

El Squibb es de 99.8%. Guyer recomienda el siguiente método para prepararlo en el laboratorio: Cristales de sulfato de cobre *se calientan* hasta que pierdan toda su agua de cristalización, quedando reducidos a un polvo blanco. Este es agregado en pequeñas cantidades al alcohol de 96%. El agua del alcohol se une a la sal y la vuelve de color azulado. El sulfato de cobre debe ser agregado hasta que no se note el cambio de coloración, lo que indica que toda el agua del alcohol ha sido absorbida. El alcohol es filtrado y guardado en un frasco bien seco, con tapa de vidrio segura. De la humedad, debe ser protegido, untando vaselina a la tapa.

Alcohol ácido.

Generalmente se obtiene la acidificación con el ácido clorhídrico. Hay diferentes fórmulas:

Guyer:

Alcohol al 35%	50 c. c.
Acido clorhídrico puro	3 gotas

Peacock:

Alcohol al 70%	100 c. c.
HCl. concentrado	0.5 c. c.

Este es el que venimos usando.

Alcohol alcalino.

Agrear unas gotas de bicarbonato de sodio al 0.1% alcohol de 70%.

Peacock recomienda :

Alcohol de 90%	99.5 c. c.
NH ₄ (OH)	0.5 c. c.
(Grav. Sp. 0.880).	

Alcohol metílico.

Es llamado alcohol de madera. Es venenoso y debe manejarse con cuidado. Tiene alrededor de 90 grados.

En caso de que no se conozca el grado de un alcohol, o se desee rectificar su %, se usará el alcoholímetro, que es una especie de densímetro que subirá o bajará en el alcohol de acuerdo con el poder del mismo (gravedad específica).

Alcohol-éter.

Alcohol absoluto y éter sulfúrico a partes iguales. Tapar firmemente.

Albúmina de huevo.

Clara de huevo	50 c. c.
Glicerina	50 c. c.
Salicilato de soda	1 gmo.

La clara se bate y se le quita la espuma. El salicilato puede ser reemplazado por un cristal de timol. Preservado con timol hemos usado como pegante la albúmina de huevo para colorear amibas de los cultivos, que necesitan material adhesivo. De lo contrario se cae el material puesto en la lámina durante el proceso de coloración por la hematoxilina férrica u otros procedimientos.

Aceto-carmín.

Acido acético glacial	45 c. c.
Agua destilada	55 c. c.
Carmín en polvo	En exceso.

Disolver el carmín en el ácido acético, calentar sin ebullición, enfriar y filtrar.

Bouin (fijador picro-formol-acético).

Acido pícrico, sol. acuosa saturada	75 partes
Formalina (Formol comercial 40%)	25 "
Acido acético glacial	5 "

(Agregar Ac. Acét. en el momento de preparar el fijador).

Berlesse, líquido. (Peacock).

Hidrato de cloral	160 gms.
Goma arábica	15 gms.
Jarabe de glucosa	10 c. c.
Acido acético	5 c. c.
Agua destilada	20 c. c.

La División de Malariología de Venezuela (Cova-García) usa la siguiente fórmula, para montar larvas de anopheles:

Hidrato de cloral.	100 gmos.
Goma arábica en polvo.	60 gmos.
Glicerina	40 gmos.
Agua destilada	100 gmos.

Bórax-Carmín, alcohólico. (Grenacher).

Bórax.	4 gmos.
Carmín	3 gmos.
Agua destilada	100 c. c.
Caliéntese y agréguese:	
Alcohol de 70%	100 c. c.

Dejar reposar por *dos días*. Filtrar.

Bálsamo del Canadá. (En xilol o benzol).

Aunque se consigue siempre en el comercio, se puede preparar en el laboratorio así:

Caliéntese la resina hasta que al enfriarse se vuelva frágil, quebradiza. Se disuelve en xilol hasta que se obtenga una solución no muy espesa. Para prevenir su acidificación, se le agrega un poco de mármol en fragmentos o en polvo y se filtra. Colocar el filtrado en una llama no muy fuerte y dejar evaporar hasta obtener la consistencia deseada. (Al producto comercial para evitar que se acidifique echarle mármol. Así, no se destiñen las preparaciones permanentes).

Carbol-xilol.

Fenol, cristales	1 gm.
Xilol.	3 gms.

Carnoy, Líquido fijador. (Peacock).

Alcohol etílico (100%)	75 c. c.
Acido acético glacial	25 c. c.

Justin Andrews da una variante de la fórmula anterior:

Según el War Department, así:

Acido acético glacial. 1 parte.	} 10 c. c. antes de usar.
Alcohol absoluto 6 partes.	
Cloroformo 3 partes.	

"Crown Immersion Oil". (Reemplazo del aceite de cedro).

Distribuído por Techni-Products Co. Buffalo, N. Y., tiene por base un aceite mineral fino, el Nujol, llevado a un índice de refracción de 1.51 aproximadamente, por la adición de alpha-brom-naphthalina. En estudios hechos en la Universidad de Michigan se encontró que 82 partes de Nujol necesitaban de la otra sustancia 18 partes. Para probar la mezcla se recomienda introducir una varilla de vidrio. En buenas condiciones la varilla no debe verse. Si se ve, corregir el índice de refracción con la adición de uno de los componentes. (Wilcox).

Cementos.

Para sellar frascos de vidrio; impermeable. Existen muchas fórmulas comerciales.

Cemento de Apathy. (Peacock).

Bálsamo del Canadá	1 parte
Cera de parafina. (Derretida)	1 parte

Calentar en un recipiente de porcelana hasta que no produzca vapores de trementina y la mezcla se vuelva color de oro. Antes de aplicarlo, calentar la mezcla usando una espátula.

Cemento de Murray, C. H.

Se consigue ya preparado y con el nombre comercial de Murrayita. (A. H. Thomas). Hemos usado este cemento con buenos resultados para jarras de museo. Cajas de Petri, etc.

Damar. (Resina de. Disuelto en Xilol).

Esta resina disuelta en xilol o benzol es de color blanco transparente muy fácil de manejar. Se usa para montaje permanente como el Bálsamo del Canadá. Se encuentra en el comercio con el nombre de "Balsam Damar" (Coleman and Bell) distribuido por A. H. Thomas.

Se puede preparar disolviendo resina Damar, blanca, en un exceso de xilol hasta formar una solución fluida. Se deja en reposo por varias horas, se filtra por papel de filtro humedecido con Xilol. Se cubre el filtrado con papel de filtro y se deja evaporar lentamente, a la temperatura ambiente o en la estufa, hasta obtener la consistencia deseada. El recipiente debe estar siempre bien tapado.

Delafield. (*Hematoxilina*)—Guyer).

Sulfato de alumbre amoniacal	20 gmos.
Agua destilada	100 c. c.
(Sol. acuosa saturada).	

Disolver 1 gramo de hematoxilina férrica en 10 c. c. de alcohol absoluto (10%) agregar gota a gota a la primera solución. Exponer esta mezcla al aire y a la luz por varias semanas o meses; aún en dos meses no se ha "madurado", es decir que la hematoxilina por oxidación se trasforme en *hemateína*. Aconsejan para rápida maduración agregar sustancias oxidante como agua oxigenada neutralizada o exponer la solución a los rayos ultravioletas por 20-30 minutos a una distancia de dos pies. Ya "madura", filtrarla y agregarle, 25 c. c. de glicerina y 25 c. c. de alcohol metílico.

Modificación de Harris.

Guyer y colaboradores han encontrado la siguiente modificación tan buena como la anterior en trabajos de rutina:

Disolver 1 gmo. de hematoxilina en 10 c. c. de alcohol absoluto y agregarlo a una solución caliente de alumbre al 10% (20 gmos. en 200 c. c.). Llevar la mezcla al punto de ebullición y agregarle 0.5 de óxido mercúrico. Después de un minuto meter el frasco en agua fría y terminar de enfriarlo en un chorro de agua continua. Poco antes de usarlo, agregarle 4% de ácido acético. *El óxido de mercurio favorece la oxidación inmediata de la hematoxilina*, condición sin la cual, como se dijo, no colorea la solución. Para obviar el inconveniente de tener que madurar la hematoxilina, es prudente tener de antemano una buena cantidad de la solución "madura".

Sólo se necesitará agregarle los otros componente, glicerina y alcohol metílico.

Erlich, Hematoxilina-Acida. (Cable).

Mezclar 10 c. c. de ácido acético glacial a 25 c. c. de alcohol absoluto. Agregar 2 gramos de hematoxilina cristalizada. Cuando esté bien disuelta, añadir 75 c. c. de alcohol absoluto y 100 c. c. de glicerina. Calentar 100 c. c. de agua destilada y agregarle 10 c. c. de alumbre de potasio. Ya disuelto el alumbre y aún caliente, mezclar esta solución con la de hematoxilina, agitando constantemente las soluciones. Dejar "madurar".

Errecart, sol. de. (Para deshemoglobinizar gotas gruesas de T. Cruz. 1941).

Formol al 40%	1 c. c.
Acido Acético	0.2 c. c.
Sol. Salina fisiológica	100 c. c.

Formalina. (Formol).

El formol comercial es una solución saturada acuosa de formaldehído (gas) y contiene aproximadamente 40% de formaldehído en peso. Esta solución es considerada como 100% de formalina y se le diluye cuando determinadas concentraciones de formalina, que no de formaldehído, son deseadas. (Cable).

Giemsa, Colorante de.

Se consigue en el comercio en Solución Madre, que hay que diluir de acuerdo con la clase de coloración, ya sea rápida o prolongada. Menos solicitado es el colorante en polvo, también distribuido en el comercio. Hemos encontrado muy bueno el Giemsa preparado en el laboratorio, siguiendo las indicaciones de Craig.

Azur II-eosina (Grubler)	3 gms.
Azur II (Grubler)	0.8 gms.
Glicerina pura (Merck)	250 c. c.
Alcohol metílico (Merck)	250 c. c.

Disolver el Azur II-eosina y el Azur II en la glicerina a una temperatura de 60°C (140°F). Agitar el frasco constantemente. Ya disueltos los colorantes, agregar el alcohol, que ha sido *calentado a*

la temperatura de la mezcla. Agitar y dejar en reposo a la temperatura del laboratorio por 24 horas. Filtrar en un frasco de tapa hermética, estéril, de coloración oscura. Esta es la sol. madre. Durante la filtración es importante tener cubierto el embudo con papel de filtro, por ser la mezcla higroscópica. Si al ensayar el colorante se notan precipitados, filtrar hasta que estos desaparezcan.

Uso: Una vez fijado el frote de sangre (hay que fijarlo con alcohol metílico absoluto Merck, preferible) o con mezcla de alcohol y éter, partes iguales, o alcohol-acetona; estos últimos, no son frecuentemente usados. Por un tiempo de 10-15 minutos, está listo para la tinción. Generalmente una gota de la Sol. Madre para 1 c. c. de agua destilada, neutra, pH. 7.0 a 7.2 da buen resultado. Sin embargo, el mejor criterio lo dará la relación de las gotas por c. c. y el resultado de la coloración. En ocasiones hay que usar 2 gotas por cada c. c. Depende de la calidad del colorante que se usa. Si se quiere obtener una coloración más intensa, Graig aconseja, y hemos probado sus buenos resultados, agregar por cada 10 c. c. de colorante listo para su uso, una gota de una solución de bicarbonato de potasio al 1%. Es conveniente preparar previamente 4 c. c. de colorante por cada lámina por colorear. En caso de que se derrame algo por ligero desnivel de las láminas no habrá que preparar cantidades adicionales. Con esta cantidad queda cubierta completamente la lámina con el colorante. 20-30 minutos serán suficientes. Si se desea más intensa coloración (Leishmanias) dejar por mayor tiempo, o diluir más el colorante, una gota para cuatro o cinco c. c. y colorear por 24 horas. (Coloración lenta). Técnica de ahorro de colorante será descrita en el capítulo de Paludismo.

Goma Formolada, 5%.

Goma arábica en polvo	60 gms.
Formalina 5%	10 c. c.
Para conservación de huevos de mosquitos.	

Glicerina Gelatinada.

Colocar 6 gms. de gelatina granulada en 40 c. c. de agua destilada. Dejar embeber por 15 minutos. Licuar a una temperatura nunca superior a 75°C en el baño de María y filtrar varias veces con tela porosa o gasa embebida con agua caliente. Disolver 1 gmo. de fenol en 50 c. c. de glicerina y agregar a la gelatina.

Gram, colorante de (método).

Aunque su uso es rutinario en bacteriología, puede necesitarse

en Parasitología. Tomamos de War Departament. Technical Manual TM 8-227 la siguiente fórmula:

Reactivos: 1) *Colorante primario*.

Cristal violeta-oxalato de amonio en solución.

1) Cristal violeta, Solución Madre (Stock sol.)	5 c. c.:
Alcohol de 95%... ..	5 c. c.
Mezclar y agregar:	
Oxalato de amonio, sol. acuosa al 1%... ..	40%

2) *Solución Yodoyodurada:*

Yodo.	1 gmo.
Yoduro de potasio	2 mgs.
Agua destilada	300 c. c.
(o, Agua dest. 240 c. c. Bicarbonato de sodio, sol. acuosa al 5%, 60 c. c.).	

3) *Decolorante:*

Alcohol etílico de 95%, o acetona, o alcohol-acetona a partes iguales.

4) *Colorante de contraste.*

Cualquier colorante simple (Sol. Madre 10 c. c. en 90 c. c. de agua destilada). Más usados: fuchina básica, safranina, etc.

Técnica:

a) Se hace un frote delgado del material y se seca al aire. Se fija a la llama. Se controla la intensidad del calor colocando la lámina con frecuentes intervalos sobre el dorso de la mano. (Evítese el exceso de calor).

b) Colóquese sobre la lámina la sol. de cristal violeta durante un minuto. Derrámese el exceso de colorante.

c) Aplicar la solución yodada por un minuto y lavar con chorro de agua.

d) Decolorar con el alcohol de medio a un minuto, en una o dos aplicaciones, hasta que no salgan trazas de colorante primario. Lavar con agua.

e) Aplicar (p. ej.) la safranina por medio minuto. Lavar. Dejar secar al aire. Cuando se tiene alguna práctica, no hay necesidad de estar pendiente de tiempos precisos.

Resultados:

Se llamarán *Gram positivos* a aquellos elementos bacterianos que se tiñen en violeta. *Gram negativos*, los que toman un color rojo, y "Gram-ambophilos", los que dan resultados variables.

Preparación de una Solución Madre, o "Stock Solution".

Una sol. Stock consiste en la solución *saturada alcohólica* del colorante. Se usa el alcohol de 95%. De antemano se conoce el grado de solubilidad de los colorantes por cada cien centímetros cúbicos de alcohol. Así: Para 100 c. c. de alc. de 95%:

Cristal violeta	13.87 gms.
Fuchina básica	8.16 gms.
Azul de metileno	1.48 gms.
Safranina	3.41 gms.

La cantidad dada, o un poquito más, disuelta en alcohol, agitada con frecuencia por uno o dos días y filtrada es el proceso recomendado. El llamado Colorante, *Solución Simple*, se obtiene disolviendo 10 c. c. de la Sol. Madre en 90 c. c. de agua destilada.

Heidenhain, Hematoxilina férrica. (Véase coloración de Protozoarios Intestinales. Sección Amibas).

Hayem, Solución de.

Cloruro de sodio	1 gmo.
Sulfato de sodio	5 gms.
Cloruro mercúrico	0.5 gms.
Agua destilada	200 c. c.

Hollande, Solución pícrica de,

Acido pícrico	4 gms.
Acetato de cobre	2.5 gms.
Formol	10 c. c.
Ac. Acético Glacial	1.5 c. c.
Agua destilada c. s. p.	100 c. c.

Jugo Gástrico Artificial. (Cable).

Es una solución de pepsina en ácido clorhídrico. Aunque las cantidades varían según los autores, una solución de pepsina al

eosina, en un recipiente de boca amplia, reposar por 6 a 12 horas, agitándolo a intervalos.

4—Colectar el precipitado por filtración hecha en papel de filtro pequeño, y lavarlo por pasada de agua destilada hasta que el color del agua sea ligeramente azul. El precipitado puede ser quitado con una espátula del papel de filtro y luego secado en el horno, o el todo, papel de filtro y precipitado, llevarlo al horno. El precipitado ya seco, se guardará en una botella seca, de color oscuro. De allí se tomarán las cantidades necesarias para preparar la solución definitiva.

5—El Colorante se preparará disolviendo 0.15 gms. del polvo seco en 100 c. c. de alcohol metílico (Merck's Reagent).

Método de coloración:

Es muy sencillo. No hay necesidad de fijar previamente la extensión de sangre o de cualquiera otra naturaleza (leishmanias) pues el colorante contiene suficiente cantidad de alcohol. No hay necesidad de diluir, como el Giemsa, la solución preparada como se dijo. Colocar el colorante en el frote por dos a tres minutos. Contar las gotas usadas. Para evitar evaporación, es aconsejable cubrir las láminas con una tapa de vidrio. No es imperioso. Trascorrido los tres minutos —tiempo al parecer standard— se le agregará a la preparación, *sin derramar el colorante*, unas gotas de agua destilada neutra en número igual al del colorante usado. En este momento es cuando el colorante actúa por ionización. Dejar por 8-15 minutos. Usamos siempre: 3 minutos para la fijación, y 8 para la coloración, en coloraciones rutinarias. Otras usan 1 y 4 minutos, respectivamente. Si se desea más intensidad, prolongar el segundo tiempo. Lavar con agua corriente. Dejar secar al aire o con la ayuda de un ventilador o el aire de una pera de caucho. Colocar las láminas en dispositivos de madera, con ranuras que le den inclinación; así el agua se escurrirá. El sistema de iluminación del microscopio da un color suficiente para secar las láminas rápidamente. No dejarlas sobre él mucho tiempo.

El colorante de Leishman se encuentra en el comercio en forma de polvo —el mejor para usar— o de solución. Si se compra el polvo comercial, disolverlo como se dijo anteriormente.

Mac Neal tetracromo, colorante de.

Disolver 1 gmo. del colorante en polvo en 50 c. c. de glicerina

pura mezclada con 50 c. c. de alcohol metílico absoluto (libre de acetona). Dejar reposar por 1-2 días y filtrar.

Mayer, Paracarmin de.

Acido carmínico	1 gmo.
Cloruro de aluminio	0.5 gms.
Cloruro de calcio	4 gms.
Alcohol etílico 70%	100 c. c.

Ringer, Solución de.

Cloruro de sodio	8 gms.
Bicarbonato de sodio	0.2 gms.
Cloruro de potasio	0.2 gms.
Cloruro de Calcio (anhid).	0.2 gms.
Dextrosa (puede omitirse)	1 gmo.
Agua destilada	1000 c. c.

Roudabush, Hemateína, Método de. (Cable).

Disolver 25 gms. de alumbre de potasio en 500 c. c. de agua destilada. Mezclar en un mortero $\frac{1}{2}$ gmo. de Forbes y MacAndrews Hemateína (color index N° 1246) con 10 c. c. de alcohol de 90%. Agregar poco a poco a la solución de alumbre, agitando la mezcla. Finalmente, lavar bien el mortero con parte de la sol. de alumbre y el todo agitarlo por varios minutos. Dejar en reposo por media hora y filtrar. Usar la solución a los dos meses.

Quensel, colorante de.

Coloración vital de trofozoitos de amibas. (Véase Amibas).

Schaudinn, Fijador de. (Andrews) Cifras iniciales.

Cloruro mercúrico. Sol. Acuosa. Sat. 6 $\frac{1}{2}$ partes ó 2 partes (200 c. c.)
(Bicloruro de.)

Alcohol etílico 95% 33 partes 1 parte (100 c. c.)

Mezclar y

Agregar antes de usar:

Acido acético glacial (2-5) partes. (Cable usa 12-15)

De acuerdo con la finalidad perseguida, los autores recomiendan dife-

rentes porcentajes de ácido acético. Véase especificación en el capítulo de coloración de Protozoarios intestinales, Hematoxilina férrica. (Amibas).

SOLUCIONES

Normal, Molar, etc. Véase capítulo correspondiente. (Preparación, etc.).

Hidróxido de Sodio, Sol. para Método de Stoll.

NaOH. (Hidróxido de sodio)	4 gms.
Agua destilada	1000 c. c.

Dicromato de Potasio, grav. esp. 1.35. Solución de.

Disolver 40 gramos de dicromato de potasio en agua destilada hasta hacer 100 c. c. Comprobar la densidad con un densímetro antes de usar. Esta solución se usa en el aislamiento de huevos de helmintos de la tierra (flota por su gran grav. específica).

Sulfato de cobre Amoniácal. (Para filtro de luz en lámparas de microscopio).

Colocar en el balón de vidrio 40 c. c. de amoníaco q. p. y añadir 12 gotas de la siguiente solución:

Sulfato de cobre q. p... ..	1 gmo.
Agua destilada	5 c. c.
H ₂ SO ₄ q. p.	2 gotas.

Glóbulos blancos, solución para contaje de.

Acido acético glacial	0.5 c. c.
Agua destilada... ..	99.5 c. c.

Este líquido puede colorearse, para identificación, con azul de metileno o violeta de genciana, con una gota de la sol. al 1% de la última. Debe ser preparada cada dos semana.

Cloruro de sodio, Solución normal o fisiológica.

Hay dos fórmulas:

NaCl... ..	7 gms.
Agua destilada... ..	1000 c. c.

NaCl... ..	8.5 gms.
H ₂ O	1000 c. c.

Esta última, 8.5%, es la más comúnmente usada.

Azúcar, solución concentrada de.

Para flotación de quistes de amibas, etc. Se puede usar como sustituto del sulfato de Zinc (Faust) 20 gramos de azúcar de caña en 100 c. c. de agua destilada. grav. esp. 1.080. (Hegner).

Sulfato de zinc, solución de. (Grav. esp. 1.18).

Para la técnica original de Faust o sus Modificaciones (Otto, etc.).

ZnSO ₄ ·7H ₂ O. U. S. P. Merck.	331 gms.
Agua destila	1000 c. c.

—O—

Sulfato de Zinc	371 gms.
Agua corriente	1000 c. c.

Fórmulas de acuerdo a Otto et al.

Yodoyodurada, solución. (Quistes de protozoarios, huevos de helmintos).

Existen muchas fórmulas al respecto. La más precisa es la de D'Antoni, estandarizada. Es dispendiosa su preparación. (Véase Craig, Laboratory Diagnosis of Protozoan Diseases, pág. 44). Magníficos resultados se obtienen con las soluciones de Lugol. Sólo que se deterioran rápidamente. Hay que estarlas preparando constantemente. Craig da la siguiente fórmula que hemos usado:

Yodo cristalizado	5 gms.
Yoduro de potasio	10 gms.
Agua destilada	100 c. c.

Disolver el yoduro de potasio en un frasco limpio con agua destilada. Agregar poco a poco los cristales de yodo agitando hasta solución completa. Filtrar y guardar en un frasco de tapa segura. Debe conservarse en la oscuridad y distribuirse en los frascos goteros comunes de laboratorio. Qjalá cada 15-20 días se prepare la solución. Otros autores recomiendan soluciones débiles de yodo 1% y de yoduro de 2%. La solución se puede hacer más débil o más fuerte de acuerdo con los resultados, si colorea demasiado o poco los huevos o quistes de parásitos. La mezcla de yodo y eosina preconizada por Donaldson no la hemos encontrado ventajosa. Se pretende buscar un fondo rosado, de contraste.

Tintura de Yodo. (Antiséptico, desinfección de la piel, operaciones, etc.).

Yodo metálico	10 gms.
Yoduro de Potasio	4 gms.
Alcohol de 95%	136 c. c.

Wright, Colorante de.

Es muy semejante a la preparación del Leishman. Craig lo considera insuperable, tan bueno como el Giemsa, siempre que se prepare en el Laboratorio, con material de primera calidad o venga de reconocida casa de productos. Preparación: Disolver 0.5 gms. de bicarbonato de sodio en 100 c. c. de agua destilada. Agregar lentamente, agitando, 1 gmo. de Azul de metileno (Grubler o National Aniline Co. U. S. A.). Calentar esta solución por una hora en un esterilizador de Arnold. Dejar enfriar. Casi nunca se alcanza a disolver el azul de metileno completamente. Después, se le agregará a esta solución, otra de eosina, de las mismas casas de productos, conteniendo 1 gmo. de la sustancia para 1000 c. c. de agua destilada. No agregar esta solución hasta que la otra no esté perfectamente enfriada y haya sido puesta en un platón de porcelana. Entonces, hacerlo, lentamente, agitando la mezcla, hasta que un definido precipitado se forme y un color verde metálico se aprecie en la superficie de la mezcla. Un buen criterio para saber cuando suspender la adición de la eosina, dice Craig, es poner un poco de la mezcla en un pedacito de papel de filtro. Se formará una mancha azul intenso, en el centro con un halo rojo en la periferia. Cuando esto acontezca, se dejará en reposo la mezcla por 15 minutos y se filtrará luego en papel de filtro pequeño. Se procederá a la obtención del polvo colorante de igual manera como se dijo para el Leishman, llevando al horno a 60°C. Guardar en frasco seco y oscuro.

Preparación: de la solución colorante: 0.30 gms. para 100 c. c. de alcohol metílico de buena calidad (Merck's Reagent). Agitar enérgicamente y filtrar. Llevar con alcohol metílico al volumen inicial de 100 c. c. El método seguido para el Leishman es aplicable para el Wright. Sólo que hay que tener especial cuidado por la evaporación. Si se quiere ahorrar colorante, bastará delimitar la zona de acción del colorante con lápiz de cera. El tiempo inicial de fijación con el colorante no deberá pasar de 3 minutos. Después agregar agua neutra, el mismo número de gotas usadas del colorante, como para el Leishman, y dejar por un tiempo de 5 a 20 minutos. Tiempo corriente, 8 minutos.

Zenker, Fijador de.

Zenker-acético. (War Department. TM-8-227).

Zenker-formol. (Helly).

Bicromato de potasio. 2.5 gms.
 Sublimado corrosivo. . . . 5.8 gms.
 Agua destilada 100 c. c.
 Acido acético (antes de usarlo). 5 c. c.

Lo mismo que la fórmula anterior, con el cambio del ácido acético por formalina, 5 a 10 c. c. antes de usarlo.

Bibliografía (*).

1930 *Hegner, R. and.*

Andrews, Justin. Problems and methods of Research in Protozoology. (Contribución de varios autores). 466. Macmillan Co. New York.

1931 Thomas, A. H. Ya citado. Reagents.

1935 *Peacock, H. A.* Ya cit. 132.

1939 *Cora-García, Pablo.* Notas sobre los Anofelinos de Venezuela y su identificación. Pág. 29. Pub. División. Malariología. N^o 2. Caracas.

1941 *War Department.* TM. 8-227. Ya cit. Págs. 147-148-408.

1942 *Craig, Charles F.* Laboratory Diagnosis of Protozoan Diseases. 145. Lea and Febiger. Philadelphia.

1942 *Cable, R. M.* An Illustrated Laboratory Manual of Parasitology. 98. Burgess. Pub. Co. Minneapolis. Minn.

1943 *Wilcox, Aimee.* Manual for the Microscopical Diagnosis of Malaria in Man. National Inst Health. Bull. N^o 180. Pág. 24.

1943 *Guyer, Michael F.* Ya cit. Págs. 7 y 230.

1944 *Talice, Rodolfo V.* *Enfermedades Parasitarias.* 557. Ed. Científica sindicato médico del Uruguay.

(*) El número que sigue al título de la publicación corresponde al capítulo o página consultados.