

Colorante safranina O

Hilda Isabel Aguirre Sánchez*

* Laboratorio de Ingeniería en Tejidos, INR.

Dirección para correspondencia:
 Hilda Isabel Aguirre Sánchez
 Teléfono: 5999 1000 ext. 19605
 E-mail: hias@gmail.com

Este artículo puede ser consultado
 en versión completa en:
<http://www.medigraphic.com/rid>

Palabras clave: Safranina O,
 tinción, colorante,
 glicosaminoglicanos.

Key words: Safranin O, stain,
 dye, glycosaminoglycans.

Resumen

La safranina O es un colorante biológico también conocido como dimetil safranina y rojo básico 2. Al ser una molécula cargada positivamente (catión) es capaz de combinarse con elementos celulares de cargas negativas. La tinción de safranina O es de contraste, ya que se usa para diferenciar una estructura celular previamente teñida con otro colorante. Se utiliza en distintas técnicas histológicas que detectan células enterocromafines del tracto gastrointestinal, el protoplasma y núcleo de microorganismos patógenos. Este colorante también se ha convertido en una guía básica en la identificación de procesos degenerativos como la osteoartritis, debido a que la safranina O se une por cargas a los grupos carboxilo y a los grupos sulfato (ambos con carga negativa) de los glicosaminoglicanos (GAGs), los cuales abundan en la matriz extracelular del cartílago articular.

Abstract

Safranin O is a biological stain, also known as dimethyl safranin or basic red 2. This is a positively charged molecule (cation) and can be binding with a negative charged cell elements. Safranin technique is a contrast stain and it is used to distinguish a cellular structure previously stained with another dye. Safranin stain is employed in different histological techniques that detecting enterochromaffin cells in gastrointestinal tract, the cytoplasm and nucleus of pathogens microorganisms. This dye has become a basic guide for identifying degenerative processes such as Osteoarthritis, due that the safranin O binds to the carboxyl and sulphate groups (negative charged) of glycosaminoglycans (GAGs), which are abundant in the extracellular matrix of articular cartilage.

El colorante safranina O es comúnmente utilizado para teñir tejidos biológicos, y sirve como herramienta en la detección de estructuras en células eucariontes y procariontes. El nombre safranina se deriva de la palabra «azafrán» por tener un color parecido a dicha planta. Aquellas células que se tiñen con este colorante se denominan safranófilos. Safranina O es un colorante biológico cuya fórmula química es $C_{20}H_{19}N_4Cl$; conocido también como Ci 50240, 3,7-diamino-2,8-dimetil-5-fenil-fenaziniumcloro dimetil safranina y rojo básico 2. Se encuentra en forma de cristales oxidados oscuros o polvo verde oscuro, inodoro y soluble en agua. No es cancerígeno, ni inflamable. Toxicológicamente puede ocasionar al contacto enrojecimiento en la piel y los ojos por lo que se recomienda lavar la zona afectada con agua.^{1,2} Se considera que este colorante es fácil de manejar en el laboratorio.

Safranina O es conocido también como colorante meriquinoide debido a que su sistema de anillos se encuentra en una posición intermedia de oxidación al tener dos anillos de tipo bencenoide y dos de tipo quinoide (*Figura 1*). Los anillos de tipo quinoide son los responsables de la coloración y su clasificación es de tipo II debido a que su sistema coloreado se encuentra en el catión.³ Los distintos tipos de safranina se comportan en tinciones biológicas de una manera muy parecida, la safranina O es la más común y la más empleada.

Al ser una molécula cargada positivamente (catión) es capaz de combinarse con elementos celulares de cargas negativas. La tinción de Gram es el ejemplo más común del uso de rojo básico 2. Esto, gracias al alemán Carl Weigert quien mejoró la técnica de Gram al añadir safranina después del lavado de etanol lo-

grando teñir de rosa a las bacterias Gram negativas, las cuales pierden el colorante cristal violeta después de ese lavado.⁴ Por otra parte, las bacterias Gram positivas quienes pueden resistir el lavado de etanol por tener una capa gruesa de peptidoglicanos en su pared celular quedan teñidas en color violeta-azul.⁵⁻⁷

El colorante safranina O es conocido como de contraste, ya que se usa para diferenciar una estructura celular previamente teñida con otro colorante.⁸ Como colorante de contraste se puede utilizar en distintas técnicas histológicas. Rojo básico es de gran ayuda cuando se quiere observar la presencia de cápsulas bacterianas; se mezclan bacterias en una suspensión coloide fina de partículas coloreadas como tinta china y luego safranina que tiñe un halo alrededor de las cápsulas bacterianas. Se utiliza en la tinción Schaeffer Fulton para detectar presencia de endoesporas; primero se tiñe con el colorante verde malaquita, y finalmente se usa Ci 50240 para teñir el resto de células sin endoesporas.⁹ También es útil para observar células enterocromafines del tracto gastrointestinal, los cortes del tejido se impregnan con cloruro de plata, la plata no reducida se retira con tiosulfato de sodio y se agrega safranina; las células enterocromafines muestran gránulos de color pardo a negro. El protoplasma y núcleo de microorganismos patógenos de la familia *Rickettsiaceae* se puede teñir con safranina mediante la técnica de Castañeda, realizando un frotis en un amortiguador de fosfatos pH 7.6, se deja secar al aire, se tiñe con solución de azul de metileno por tres minutos y se contrasta con safranina. Las *brucellas* se tiñen con el método de Koster modificado; se seca y fija el frotis a la llama, se tiñe por un minuto con 2 partes de safranina saturada en solución acuosa y 3

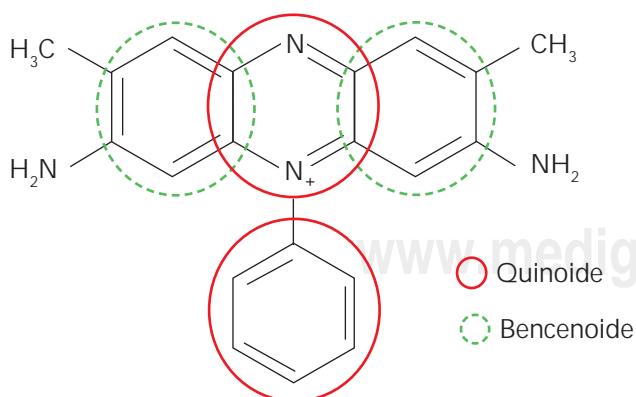


Figura 1. Anillos bencenoides y quinoideos en fórmula estructural de safranina O, tomada y modificada de ficha técnica safranina O de Merck Chemicals México.

partes de solución de hidróxido potasio 1 mol/L, se lava con agua corriente y se tiñe con azul de metileno fenicado al 1%, si el resultado es positivo se pueden observar las *brucellas* de color naranja y el fondo azul. Se ha reportado que este tipo de colorante puede ser tóxico para algunas cepas bacterianas ya que se ha observado que en presencia de safranina O en dilución 1:5,000 se inhibe el crecimiento de todos los biotipos de *B. suis*. Sin embargo, todos los biotipos de *B. abortus* y *B. melillenses* proliferan en presencia de la misma.^{9,10}

Este colorante se ha convertido en una guía básica en la identificación de procesos degenerativos como la osteoartritis, debido a que safranina O se une por cargas a los grupos carboxilo y a los grupos sulfato (ambos con carga negativa) de los glicosaminoglicanos (GAGs), los cuales son estructuras terminales de los proteoglicanos como el agregano, que es un componente esencial del cartilago articular y de la placa de crecimiento de los huesos. De modo que al teñir peptidoglicanos se puede cuantificar la pérdida de tejido cartilaginoso, considerando la pérdida de tinción cuantificada en escala Mankin o escala de artrosis.¹¹⁻¹³

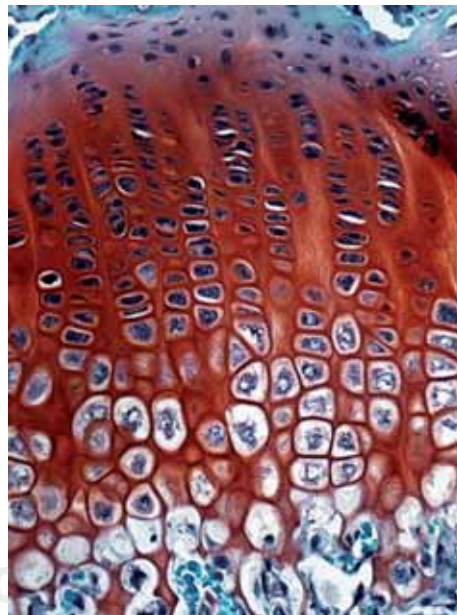


Figura 2. Placa de crecimiento de ratón teñida con colorante safranina O que se une a las cargas negativas de los proteoglicanos permitiendo la identificación de tejido articular en color rojo.

Imagen en color en: www.medigraphic.com/rid

La tinción safranina O/verde rápido da como resultado proteoglicanos (PG) naranjas y hueso color verde: la intensidad de la tinción de la safranina O es directamente proporcional al contenido de PG, no obstante esta relación esteoquímica se ve alterada cuando se combina con verde rápido. En procesos patológicos en los que se produce pérdida excesiva de PG del cartílago, el contenido de PG excesivamente bajo puede ser detectado con anticuerpos y no con safranina O. Debido a que durante el procesamiento histológico de los tejidos los descalcificantes y alcoholes extraen y precipitan fácilmente glicosaminoglicanos, esto puede alterar la composición del tejido en estudio, por ello algunos histólogos incluyen 0.5% de safranina en el descalcificante para evitar la pérdida de PG.¹³ Probablemente al unirse safranina a los PG les confiera una mayor estabilidad molecular y evite su precipitación, pero eso no está muy claro aún.

La tinción safranina O para proteoglicanos en cartílago articular consiste en sumergir laminillas con cortes de la muestra, en hematoxilina férrica de Weigert la cual tiñe de negro los núcleos, posteriormente se diferencia con alcohol ácido, se lava y se utiliza verde rápido con la finalidad de teñir hueso, se lava con ácido acético y posteriormente se incuba el tejido en el colorante safranina O, el cual se une a las cargas negativas de los glicosaminoglicanos, finalmente se deshidrata el tejido con alcoholes y se aclara con xileno.¹² Una vez montada la muestra con resina, podremos ver en cualquier microscopio de campo claro, tejidos teñidos en rojo, verde y negro; cartílago, hueso y núcleos, respectivamente (*Figura 2*).

Referencias

1. Favela PRO. Safranina O (ficha técnica en línea) Sinaloa; 2007 [acceso 12 marzo 2012]. Disponible en: <http://www.fagalab.com/H.%20de%20Seguridad.html>
2. Sigma Aldrich. Safranina O (ficha técnica en línea) Toluca; 2010 [acceso 12 marzo 2012]. Disponible en: <http://www.sigmaaldrich.com/mexico.html>
3. Klages F. Tratado de química orgánica. Reverté, Zaragoza; 1968.
4. Fariña-Garrido GI, Cornejo-Cortés MA, Salinas-Jiménez E. Manual de colorantes para laboratorios de ciencias biológicas. UNAM Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, México; 2003.
5. Schlegel HG. Microbiología general. Omega, 9a Ed Barcelona; 1996.
6. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Diagnostic microbiology. Mosby, 10a Ed St Luis; 1998.
7. García-Rodríguez JA y Picazo JJ. Compendio de microbiología médica. Harcourt, Madrid; 1999.
8. Bancroft JD y Gambe M. Theory and practice of histological techniques. Elsevier Health Sciences, 6a Ed Philadelphia; 2008.
9. Loup RH. "Brucelosis". En: Acuña LA y Casás R. Manual de técnicas de laboratorio para el diagnóstico en salud animal. SENACSA e IICA, Paraguay; 2001: Tomo I. p.47-53.
10. Torres-Seco F. Manual de técnicas en histología y anatomía patológica. Ariel; Madrid; 2002.
11. Blanco-García FJ, Cañete JD, Pablos JL. Técnicas de investigación básica en reumatología. Médica Panamericana, 2a Ed Madrid; 2007.
12. Fuentes-Boquete IM. "Estructura del hueso". En: Sociedad Española de Reumatología. Manual de Enfermedades Óseas. Médica Panamericana, Madrid; 2010; p.1-7.
13. Yuehwei HA y Kylie LM. Handbook of histology methods for bone and cartilage. Humana Press, New Jersey; 2003.