

Generalmente sono coloranti IDROSOLUBILI

- rimuovere la paraffina
- idratare il campione
- colorare
- disidratare nuovamente.

COLORANTI ACIDI

→ strutture basiche

- EOSINA
- BLU DI ANILINA
- ORANGE G
- FUCSINA ACIDA

La reattività dei gr. anionici dipende dal pH:

- pH elevato [>10] (tutti i gr. si colorano)
- pH ~ neutro (si colorano solo ioni fosfato e solfato)
- pH basso [<4] (si colorano solo ioni fosfato)

EHATOSSILINA - EOSINA

(bicomica, di routine)
Sfrutta il pH di tessuti e organelli → componenti basiche = viola scuro; componenti acide = rosa ± chiaro.

TRICROMICA DI MASSON

- (per t. connettivo). Combinata:
- ematossilina → nucleo = viola
 - fucsina acida → citoplasma = rosso
 - blu di anilina → s. basiche = blu

Coloranti sintetici

Coloranti naturali

Tipologie di coloranti

COLORANTI BASICI (→ strutture acide)

- EHATOSSILINA
- ALCIAN BLU
- BLU DI METILENE
- BLU DI TOLUIDINA (verde metile)
- (pironina G)

COLORANTI NEUTRI

VERDE JANUS (per mitocondri)

Processo di colorazione

C. SEMPLICI (1 colorante)

C. COMBinate (più coloranti, gan. no agisce su strutture specifiche)

C. METACROMATICHE (coloranti basici che, a causa della presenza di polianioni nel campione, formano degli aggregati e variano la capacità di assorbimento della luce rispetto alle molecole di colorante non aggregate) [metacromasia]

COLORAZIONI MICROSCOPIA OTTICA

Principali colorazioni

MAY-GRUNWALD GIEMSA

(per strisci di sangue). Elettiva.

- Procedura:
- 1) Coloraz. di May-Grunwald (blu di metilene + eosina)
 - 2) Lavaggio in H₂O corrente
 - 3) Coloraz. con miscela di Giemsa (eosina giallastra + blu di metilene + Azur A e Azur B + violetto di metilene).

IMPREGNAZIONE ARGENTICA / C. DI RAMON Y CAJAL

(per t. nervoso). Impregnazione metallica elettiva (precipitazione del cromato d'argento). Il campione deve essere fissato con metalli pesanti (tetrossido di osmio e bicomato di potassio).

C. DIRETTE (il campione assorbe direttamente il colore)

C. INDIRETTE (il campione assorbe il colore grazie alla presenza di un mordente)

Mechanismo di colorazione

C. PROGRESSIVE (si lascia agire il colorante finché non si ottiene il grado di colorazione desiderato)

C. REGRESSIVE

(la sezione viene sovra-colorata, poi si rimuove l'eccesso di colore tramite lavaggi).

Reazione ACIDO PERIODICO - REATTIVO DI SCHIFF (PAS) (evidenzia i carboidrati).

- L'ac. periodico ossida i leg. tra at. di C contigui nella catena carboniosa → libera 2 aldeidi.
- Il reatt. di Schiff, in presenza di anidride solforosa, reagisce con le aldeidi → color magenta.

COLORANTI SUDAN (per i lipidi). Elettiva.

Il campione deve essere congelato (non bisogna utilizzare solventi organici né paraffina, altrimenti si degradano i lipidi).

- SUDAN III → lipidi neutri = arancione
- SUDAN IV → lipidi, trigliceridi, lipoproteine = rosso
- SUDAN BLACK → tutti i tipi di lipidi = nero

PICROSIRIUS RED

- Per:
- Fibrille amiloidi → colorante Sirius Red
 - Fibre collagene → Sirius Red + acido picrico (→ Picrosirius Red)

Se usata con la luce polarizzata, identifica in modo più specifico le fibre col. (perché si sfrutta anche l'insita birifrangenza del collagene)

APPANCIO DI ACRIDINA

(metacromatica, fluorescente, di natura organica).

Per gli ac. nucleici; ≠ fluoresc.:

- doppia elica = verde
- singola elica = rosso

[il citoplasma è giallo per la sovrapposizione dei due]

Attenzione: inversione della colorazione del citosol (duma = giallo-verde; microorganismi = rosso)

BLU DI TOLUIDINA (basico)

→ c. ortocromatiche (strutture acide = azzurro)

Per t. nervoso (cromatina, corpi di Nissl)

→ c. metacromatiche (rosso-violetto).

Per cartilagine.