



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

Informe final de investigación previo a la obtención del título de Licenciada en Ciencias
de la Salud en Laboratorio Clínico e Histopatológico

TRABAJO DE TITULACIÓN

Título: Procesamiento de tejidos humanos mediante la utilización de coloraciones de
rutina

Autora: Gabriela Elizabeth Chamorro Avalos

Tutor: Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez

Riobamba – Ecuador

2021


CERTIFICADO DEL TRIBUNAL

Los miembros del tribunal de graduación del proyecto de investigación de título: Procesamiento de tejidos humanos mediante la utilización de coloraciones de rutina, presentado por Gabriela Elizabeth Chamorro Avalos, y dirigida por Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez, una vez escuchada la defensa oral y revisado el informe final del proyecto de investigación con fines de graduación escrito en el cual se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remite la presente para uso y custodia en la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Salud de la UNACH.

Para constancia de lo expuesto firman:

Mgs. Mercedes Balladares Saltos

Presidenta del tribunal

Firma válida solo para:

Proyectos de Investigación

Firma

Mgs. Yisela Ramos Campi

Miembro del Tribunal

Firma válida solo para:

Titulación Especial

Firma

MsC. Félix Falconí Ontaneda

Miembro del Tribunal

Firma válida solo para:

Comité Consultivo de Tesis - Cámara G. 07/2021

Firma

CERTIFICADO DEL TUTOR

Yo, **Carlos Iván Peñafiel Méndez**, docente de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico en calidad de Tutor del Proyecto de Investigación titulado: **Procesamiento de tejidos humanos mediante la utilización de coloraciones de rutina**, propuesto por la señorita **Gabriela Elizabeth Chamorro Avalos**, egresada de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico de la Facultad Ciencias de la Salud, luego de haber realizado las debidas correcciones, certifico que se encuentra apto para la defensa pública del proyecto.

Riobamba, 01 de julio de 2021



.....
Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez

Docente tutor de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

AUTORÍA DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

La responsabilidad del contenido de este trabajo de investigación, corresponde exclusivamente a su autora Gabriela Elizabeth Chamorro Avalos con cédula de identidad 1723148415 y Tutor Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez, y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Nacional de Chimborazo.



.....
Gabriela Elizabeth Chamorro Avalos

Autora

CI: 1723148415



Firmado electrónicamente por:

**CARLOS IVAN
PENAFIEL
MENDEZ**

.....
Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez

Tutor

CI: 0602768277

AGRADECIMIENTO

La vida se encuentra plegada de retos, y uno de ellos es la universidad. Tras verme dentro de ella, me he dado cuenta que más allá de ser un reto, es una base no solo para mi entendimiento del campo en el que me visto inmerso, si no para lo que concierne a la vida y mi futuro

Por eso agradezco a la Universidad Nacional de Chimborazo por haberme aceptado ser parte de ella y abierto las puertas de su seno científico para poder estudiar mi carrera, así como también a los diferentes docentes que brindaron sus conocimientos y su apoyo para seguir adelante día a día, demostrando la humanidad que los caracteriza

Agradezco también a mi tutor del Proyecto Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científico, así también como haberme tenido toda la paciencia del mundo para guiarme durante todo el desarrollo del proyecto.

Mi agradecimiento también va dirigido al centro de salud Lizarzaburu y Hospital de Especialidades Andino por haberme aceptado realizar mis prácticas en su prestigiosa casa de salud.

Gabriela

DEDICATORIA

Dedico este proyecto de tesis a Dios quien ha sido mi guía, A mi hijo Eithan Samir Bonilla por ser mi fortaleza. A mi padre Jaime Chamorro y a mi madre Belgica Avalos que son pilares fundamentales en mi vida, los cuales me apoyaron para culminar mi carrera, depositando su entera confianza sin dudar ni un solo momento en mi inteligencia y capacidad, por ayudarme con los recursos necesarios para estudiar. Por formarme con buenos valores, principios, carácter, empeño, perseverancia, y darme el coraje para conseguir mis objetivos, con mucho amor y cariño, les dedico todo mi esfuerzo, en reconocimiento a todo el sacrificio puesto para poder realizar mis estudios. A mis hermanas Adriana, Nathaly, Andrea y Romina por ser un gran apoyo. A mis sobrinos Anderson, Erick y María Victoria porque llenan de alegría cada día de mi vida. Finalmente quiero dedicar esta tesis a todos mis familiares.

Gabriela

ÍNDICE

CERTIFICADO DEL TRIBUNAL	v
CERTIFICADO DEL TUTOR	vi
AUTORÍA DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN	vii
AGRADECIMIENTO.....	viii
DEDICATORIA	ix
ÍNDICE.....	x
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xii
RESUMEN	xiii
ABSTRAC	xiv
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II. METODOLOGÍA	22
CAPÍTULO III. DESARROLLO	26
CONCLUSIONES	41
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Técnicas de tinciones más utilizadas para biopsias gástricas	26
Tabla 2: Tipos de fijadores	30
Tabla 3: Coloraciones de rutina para diferentes tipos de tejidos humanos	32
Tabla 4 tinción Papanicolaou y la tinción Giemsa como coloración rutinaria de algunos tejidos humanos	38

ÍNDICE DE ANEXOS

- Anexo 1:** Pasos que se siguen durante una tinción general de Hematoxilina-Eosina.
- Anexo 2:** Diagnóstico microscópico.
- Anexo 3:** Principios Básicos de la tinción de Papanicolaou en diagrama.
- Anexo 4:** Comparación de la tinción de Papanicolaou y la tinción de May Grunwald Giemsa
- Anexo 5:** Preparación de diferentes soluciones de formalina
- Anexo 6:** Comparación de diferentes fijadores
- Anexo 7:** Fijador de elección según tejido
- Anexo 8:** Técnica Warthin Starry
- Anexo 9:** Recomendaciones generales de control de calidad
- Anexo 10:** Coloración de tejidos humanos usando la tinción Papanicolaou
- Anexo 11:** Coloración Van Gieson Para Fibras Colagenos
- Anexo 12:** Colores y detalles celulares en corte histológico teñido con Hematoxilina Eosina (H-E)
- Anexo 13:** Biopsia de médula ósea que muestra eritropoyesis activa
- Anexo 14:** Dibujo esquemático para mostrar la correlación de ultraestructura con tinción de hematoxilina-eosina (H-E) para fibroblasto, célula de músculo liso y miofibroblasto
- Anexo 15:** Métodos Giemsa
- Anexo 16:** Mesénquima con coloración H-E
- Anexo 17:** Epitelio Cilíndrico Simple del Intestino Delgado con coloración H-E
- Anexo 18:** Fuentes bibliográficas seleccionadas para el análisis de muestra 1

RESUMEN

Los tejidos humanos, son incoloros y por ello hay la necesidad de teñirlos para observar sus características morfológicas. El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo actualizar información del procesamiento en tejidos humanos mediante la utilización de coloraciones de rutina, para su respectivo diagnóstico. El proyecto se ha realizado bajo un diseño documental bibliográfico de nivel descriptivo, dentro de un enfoque cualitativo, no experimental y de alcance transversal. La población estuvo conformada por 59 fuentes bibliográficas de las cuales 40 fueron seleccionadas para la muestra luego de aplicar criterios de inclusión y exclusión los mismos que reflejaron información relevante para el tema. De la técnica de recolección de datos se basaron en buscadores como Scielo, Pubmed, Latindex, Repositorios, Manuales y libros. Como resultado se obtuvo tres coloraciones estándares en el área de Anatomía Patológica las cuales son: tinción de Hematoxilina-Eosina, tinción de Giemsa y tinción Papanicolaou, en la aplicación de diferentes tejidos y células que llega al laboratorio para su respectivo procesamiento. Se llegó a la conclusión que la tinción de Hematoxilina-Eosina es la más empleada debido a su bajo costo, requiere poca instrumentación en su preparación y también que los médicos especialistas en cito histopatología la usan como una técnica Gold estándar, mientras que la coloración con Giemsa es la favorita para la identificación de biopsias gástricas, en base a su buena sensibilidad y especificidad, permitiendo identificar características celulares de la mucosa gástrica y por último se tiene que la Tinción de Papanicolaou es recomendada para el diagnóstico citológico, es excelente evaluando las características de la cromatina nuclear, diferencial y transparencia citoplasmática, siendo un éxito de la citología cervical como método de tamizaje para la detección de cáncer de cuello uterino.

Palabras clave: Tinción, Colorante, tinción Hematoxilina-Eosina, tinción Giemsa y tinción Papanicolaou

ABSTRACT

Human tissues are colorless and therefore there is a need to stain them to observe their morphological characteristics. The research's work objective was to update information on processing in human tissues through the use of routine stains, for their respective diagnosis. The project has been carried out under a descriptive-level bibliographic documentary design, within a qualitative, non-experimental and cross-sectional approach. The population consisted of 59 bibliographic sources, of which 40 were selected for the sample after applying inclusion and exclusion criteria, which reflected relevant information for the topic. The data collection technique was based on search engines such as Scielo, Pubmed, Latindex, Repositories, Manuals and books. As a result, three standard stains were obtained in the Pathological Anatomy area, which are: Hematoxylin-Eosin staining, Giemsa staining and Papanicolaou staining, in the application of different tissues and cells that reach the laboratory for their respective processing. It was concluded that the Hematoxylin-Eosin stain is the most widely used due to its low cost, requires little instrumentation in its preparation and also that medical specialists in cyto-histopathology use it as a standard Gold technique, while staining with Giemsa is the favorite for the identification of gastric biopsies, based on its good sensitivity and specificity, allowing the identification of cellular characteristics of the gastric mucosa and finally, the Papanicolaou stain is recommended for cytological diagnosis, it is excellent evaluating the characteristics of nuclear chromatin, differential and cytoplasmic transparency, being a success of cervical cytology as a screening method for the detection of cervical cancer.

Key words: Stain, Stain, Hematoxylin-Eosin stain, Giemsa stain and Papanicolaou stain

Reviewed by:
Danilo Yépez Oviedo
English professor UNACH
0601574692

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

En el presente estudio se abordó temáticas sobre coloraciones básicas para el procesamiento de tejido humano, los mismos que están conformados por células del mismo tipo que desempeñan una función específica. Los principales tejidos constitutivos de los órganos del cuerpo humano son: de revestimiento (tejido epitelial), de sostén (óseo y cartilaginoso), de unión y relleno (conjuntivo y adiposo), de defensa (linfoide). Unos presentan diferentes variedades, así en el tejido conjuntivo se distinguen: conjuntivo fibroso, elástico y laxo; en el adiposo: blanco y pardo¹. Para procesamiento de tejidos es primordial en cualquier laboratorio utilizando técnicas histológicas y citológicas.

Las técnicas histológicas contienen una serie de protocolos mediante una muestra de tejido llega a transformarse en finos cortes coloreados que pueden ser visualizados en el microscopio, donde el proceso histológico está comprendido de pasos²: las muestras son obtenidas mediante procedimiento quirúrgico. Una vez recibido por criterios de aceptación: previamente fijado el tejido, macroscopía, procesamiento de tejidos, inclusión de tejidos en parafina formando el bloque, corte micrótomo, pesca, coloración montaje y diagnóstico. De requerir se utiliza adicional, pruebas especiales como IHQ.

La tinción histológica es un proceso empleado para proveer de color a los componentes de un tejido, donde existen varios métodos, generales y otros específicos, que permiten poner de manifiesto tanto la topografía tisular, tipos celulares concretos y determinados organelos o estructuras intracelulares².

Entre los principales problemas en la interpretación de los cortes de tejido como lo son los artefactos, siendo una estructura o aspecto que se produce durante el procesamiento de una muestra, durante la preparación histológica, que perturba la correcta interpretación del preparado, porque no es una estructura que provenga del tejido u órgano³⁴, son de causa técnica debido a una fijación insuficiente, deshidratación imperfecta, colorantes viejos, mellas en la cuchilla del micrótomo o una deshidratación agresiva⁵, que a una mala coloración. Las más frecuentes son: tejido quebradizo, fijación defectuosa y finalmente una de las primordiales el precipitado de colorantes. Muchas de las veces se observan sobre el

corte histológico cristales coloreados que pertenecen a colorantes que han precipitado, o que no han sido "adecuadamente lavados"⁶.

Dentro del Laboratorio de Anatomía Patológica existen estudios para células, implementando una técnica como la citología, que fue introducida como un procedimiento de diagnóstico en patología neoplásica del cuello uterino y otras, llamada Papanicolaou, en honor de Georgios Papanicolaou quien nació en Kimi, en la isla de Eubea (Grecia), el 13 de mayo de 1883⁷, médico griego que fue pionero en citología y detección temprana de cáncer, tuvo un infarto de miocardio que lo llevó a la muerte el 19 de febrero de 1962, a los 74 años⁷. Esta prueba cito cérvico vaginal ha tenido una gran aceptación en la práctica médica debido principalmente a su bajo costo⁸. Utiliza métodos poco invasivos como raspado, cepillado, aspiración, además es rápido, fácil de realizar, rentable, relativo, donde la muestra puede ser preservada permanentemente y se puede hacer el muestreo de amplias áreas de tejido³.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), según las estadísticas se estima que existe más de un millón de mujeres fallece por cáncer de cérvix y otras patologías en el mundo, debido a que no son diagnosticadas a tiempo y no tienen acceso al tratamiento, 80% de las muertes ocurre en los países subdesarrollados; al analizar esta declaración podría inferir que la principal causa de no hacer un diagnóstico presuntivo certero⁸.

Los tejidos humanos, son incoloros y por ello hay la necesidad de teñirlos para observar sus características morfológicas con el microscopio óptico. Consiguiendo sustancias coloreadas que son capaces de adherirse de manera más o menos específica a estructuras del tejido aportándoles color⁶.

Los colorantes son sustancias que se emplean para teñir las células, sus compartimentos, la matriz extracelular⁹, y componentes tisulares que van a ser observados siendo las más usadas las secciones obtenidas a partir de inclusiones en parafina¹⁰. Se clasifican como: compuestos químicos naturales o artificiales, se determinan por tener uno o más grupos atómicos generadores de color (cromóforos), así como uno o más grupos con afinidad química hacia sustratos coloreables (auxócromos). En algunos casos el auxócromo no reacciona directamente con el sustrato coloreable sino que lo hace con una sustancia intermediaria que tiene doble afinidad: por el colorante y por el sustrato y que se nombra mordiente⁶.

Existen diversas clasificaciones de colorantes que se han desarrollado, algunos de ellos se han obtenido empíricamente; sin embargo, se busca evidenciar otras reacciones químicas, que pueden ser: ácidos, básicos, neutros, indiferente o hidrofóbico, metacromáticos.

Colorantes básicos

Están formados por la unión de un cromógeno de baja intensidad y carácter débilmente ácido, con grupos auxóchromos catiónicos fuertemente básicos que son los encargados de la carga global del colorante¹¹. Por tal razón, se los emplea para colorear estructuras ácidas, especialmente contenidas en el interior de los núcleos celulares en forma de ácidos nucleicos (lacas de hematoxilina, fucsina básica, galocianina)¹¹.

Colorantes ácidos

Son productos del acoplamiento de un cromógeno de baja intensidad débilmente básico con grupos auxóchromos ácidos que confieren dicho carácter al colorante. Generalmente, se tiñen estructuras básicas comprendidas en los citoplasmas celulares (eosina, fucsina ácida, pironina, etc)¹¹.

Colorantes neutros

Se originan por la combinación de carácter salino entre colorantes ácidos y básicos para construir un precipitado, generalmente insoluble en agua y muy estable en disolución alcohólica. Mediante esta forma, siendo su carga global neutra, almacenan en parte la propiedad de colorear conjunta o separadamente diversas estructuras¹¹.

Colorantes indiferentes

Son aquellos que no poseen un carácter ácido, básico o salino definido, por lo que habitualmente colorean los tejidos a través de un mecanismo por impregnación física.

Sin embargo, cuando se utilizan ciertos colorantes básicos derivados de la anilina, algunas estructuras tisulares se tiñen de color totalmente distintos, este efecto se conoce con el nombre de metacromasia y las estructuras así teñidas, cromótopas. Los colorantes metacromáticos son sustancias químicamente puras y no de carácter salino¹¹.

Colorantes metacromáticos

En condiciones normales, la mayor parte de los tejidos tienden a teñirse con una tonalidad semejante a la del colorante utilizado para su demostración. A esta demostración se le conoce con el nombre de ortocromasia¹¹.

Los colorantes usados en histología se emplean a muy altas concentraciones y la cantidad que se une al tejido es realmente pequeña. Por eso, una solución de colorantes se puede usar muchas veces sin que se agote. La manera en cómo se consigue una tinción adecuada se puede dividir en diferentes tipos:

- Coloración progresiva consiste en obtener una coloración adecuada controlando el tiempo de la sección en el colorante, de modo que a más tiempo más coloración¹⁰.
- Coloración regresiva consiste en la eliminación lenta de colorante de una tinción que ha sido teñida en exceso. Esta eliminación se consigue normalmente con soluciones alcohólicas y al proceso se le denomina desteñido. La concentración de la solución y tiempo de diferenciación nos aporta la coloración adecuada¹⁰.
- Coloración directa o sustantiva. Ejerce sobre células y tejidos cuando éstos se ponen en contacto con la solución colorante, el resultado indica una verdadera afinidad entre el tejido y el colorante. Ejemplo: la tinción de los núcleos por el azul de metileno¹².
- Coloración indirecta o adjetiva. Para que lleve a efecto la coloración es indispensable recurrir al empleo de sustancias intermediarias que faciliten la adhesión del colorante en las estructuras tisulares. La sustancia intermediaria que se utiliza se denomina “mordiente”¹².
- Coloración simple. Es el procedimiento en el que se utiliza un solo colorante para teñir algún componente celular o tisular. Por ejemplo, teñir los núcleos con tionina¹².
- Coloración compuesta o combinada. Consiste en la aplicación, a una muestra de tejido u órgano, de varios colorantes con la finalidad de destacar, mediante colores diferentes, estructuras específicas que forman parte de ella¹².
- Coloración ortocromática. Es la acción de tinción que ejerce un colorante al pintar una determinada estructura con su propio color. La gran mayoría de los colorantes producen esta coloración¹².
- Coloración metacromática. Es la tinción en la cual, un colorante además de ceder su propio color a una estructura celular o tisular también tiñe de color distinto a otras estructuras¹².

Principios del procesamiento de tejidos

El procesamiento de tejidos está diseñado para eliminar toda el agua extraíble del tejido, reemplazándola con un soporte medio que proporciona suficiente rigidez para permitir seccionamiento del tejido sin parénquima daño o distorsión¹³.

Etiquetado de tejidos

Se debe incluir un número o código de acceso único asignado a cada muestra de tejido. Este número único debe acompañar las muestras en todo el laboratorio proceso y puede generarse electrónica o manualmente. La nueva tecnología ha hecho que los códigos de barras sean más rápidos sistemas de respuesta (QR) y reconocimiento de caracteres fácilmente disponible en la mayoría de los laboratorios. Automatizado sistemas de preetiquetado que graban o graban permanentemente graba en relieve casetes y portaobjetos de papel, así como bolígrafos, lápices, portaobjetos y etiquetas químicamente resistentes¹³.

Utilizado habitualmente en los laboratorios de patología. Sin importar de si se trata de un sistema de etiquetado automático o manual se utiliza, se deben aplicar políticas y procedimientos adecuados en su lugar para garantizar la identificación positiva del tejido bloques y diapositivas durante el procesamiento, diagnóstico y presentación¹³.

El tejido graso se puede reducir en gran medida con la adición de vacío durante el procesamiento¹³.

Etapas del procesamiento de tejidos

- a) Fijación: estabiliza y endurece el tejido con distorsión mínima de las células.
- b) Deshidratación: eliminación de agua y fijador del tejido.

Fluidos deshidratantes

- Etanol (C₂H₅OH)
- Metanol (CH₃OH)
- Propan-2-ol, alcohol isopropílico (CH₃CHOHCH₃)
- Alcohol butílico (butanol) (C₄H₉OH)
- Acetona (CH₃COCH₃)

Aditivos para agentes deshidratantes

Los disolventes universales ya no se utilizan en la rutina procesamiento debido a sus propiedades peligrosas, y deben manipularse con sumo cuidado. Los disolventes

universales deshidratan y limpian los tejidos durante el procesamiento de tejidos. Dioxano, butanol terciario y el tetrahidrofurano se consideran universales disolventes. No se recomiendan para su procesamiento¹³.

c) Aclarado: eliminación de soluciones deshidratantes, haciendo que los componentes del tejido sean receptivos al medio infiltrante.

Aclaradores

- Los criterios para elegir un agente de compensación adecuado están:
- Rápida penetración de los tejidos
- Eliminación rápida del agente deshidratante
- Facilidad de eliminación mediante cera de parafina derretida
- Daño tisular mínimo
- Baja inflamabilidad
- Baja toxicidad
- Bajo costo
- Agentes aclaradores adecuados para uso rutinario
- Xileno
- Tolueno
- Cloroformo
- Sustitutos del xileno
- Aceites de cítricos - reactivos de limoneno

d) Infiltrado: impregnando el tejido con un medio de apoyo.

Reactivos de infiltración e inclusión

- Cera parafina
- Aditivos de cera de parafina
- Ceras de parafina que contienen plastificantes u otros
- Resina
- Agar
- Gelatina
- Celoidina

Técnica Histológica

Es un conjunto de pasos a seguir para la obtención de preparados histológicos aptos para su estudio mediante el microscopio óptico.

1. Obtención del tejido: se efectúa mediante biopsia, necropsia o autopsia¹⁴.
2. Fijación: una vez obtenido el material que se desea estudiar por cualquiera de los procedimientos descritos se procede a su fijación con lo que se evita la destrucción o lisis celular¹⁴.
3. Orientación de tejidos: la orientación de la muestra durante la inclusión es importante para demostrar una morfología adecuada¹³.

La orientación incorrecta puede resultar en tejido de diagnóstico elementos dañados durante la microscopía o no siendo evidente para la revisión de patología. Productos están disponibles que ayudan a garantizar una orientación adecuada: sistemas de marcado, tintes para tatuajes, bolsas de biopsia, esponjas, y papeles. La orientación del tejido debe ofrecer la menor resistencia del tejido contra el cuchillo durante seccionamiento. Un margen de medio de incrustación alrededor el tejido asegura el soporte del tejido¹³.

Los tejidos que requieren una orientación especial incluyen:

- Estructuras tubulares: sección transversal de la pared y el lumen debe ser visible; arterias, venas, muestras de trompas de Falopio y conductos deferentes.
- Biopsias de piel; punzón de afeitador o escisiones, cruz sección de la epidermis, dermis y las capas subcutáneas deben ser visibles.
- Intestino, vesícula biliar y otros epitelios biopsias: corte en un plano perpendicular a la superficie, y orientada de modo que la superficie epitelial sea corte al final, minimizando la compresión y la distorsión de la capa epitelial.
- Biopsias musculares: secciones que contienen tantos planos transversales y longitudinales.
- Varias piezas de un tejido se orientan una al lado de la otra con la superficie epitelial orientada hacia la misma dirección.

Después de la extracción de una muestra de tejido del paciente, una serie de procesos físicos y químicos deben tener lugar para asegurar que los portaobjetos microscópicos finales producidos son de calidad diagnóstica. Los tejidos son expuestos a una serie de reactivos que fijan, deshidratan, limpiar e infiltrar el tejido¹³.

4. Inclusión en parafina: es una mezcla de hidrocarburos saturados que tienen diferentes puntos de fusión, es blanda cuando se funde a 44–48°C y dura a 56–58°C ¹⁴.

5. Corte: se realiza mediante el uso del micrótopo ¹⁴.

El tejido es finalmente incrustado en un medio que proporciona soporte para microtomía. La calidad de la preservación estructural de los componentes del tejido está determinada por la elección de los tiempos de exposición a los reactivos durante el procesamiento. Cada paso en el procesamiento de tejidos es importante; desde la selección de la muestra, determinando los protocolos y reactivos apropiados a utilizar, hasta la tinción y diagnóstico final. La producción de diapositivas de calidad para el diagnóstico requiere habilidades que se desarrollan a través de la práctica y la experiencia continuas ¹³.

6. Coloración: es un completo complejo físicoquímico que le confiere color a los tejidos durante tiempos prolongados. Las moléculas de colorantes tienen un grupo que es el que le confiere el color: cromóforo y otro que lo fija auxocromo ¹⁴.

7. Montaje: Las preparaciones permanentes se acoplan con medios disueltos aplicados sobre la preparación y que endurecen por evaporación del disolvente. En tanto, las preparaciones histológicas y citológicas deben deshidratarse completamente antes del montaje. Como última etapa debe usarse xileno o un sustituto de éste, lo que asegura que el tejido se transparente y al poner el medio se extienda perfectamente bien, pues la mayor parte de los medios de montaje están diluidos en xilol ².

Procesamiento automatizado de tejidos

El principio básico para el procesamiento de tejidos requiere el intercambio de fluidos utilizando una serie de soluciones para un período de tiempo predeterminado en un entorno controlado. Durante décadas, la instrumentación utilizada en el procesamiento de tejidos se mantuvo relativamente sin cambios ¹³.

Los avances recientes ahora incluyen microondas especiales hornos, la aparición de procesadores de rendimiento constante y con retortas de varias secciones. Existen varios tipos de procesamientos como los siguientes:

a) El procesador de tipo carrusel (transferencia de tejido)

Los sistemas autónomos de intercambio de fluidos fueron los primeros procesadores de tejidos automatizados utilizados en la histología laboratorio. El procesador tipo carrusel transporta bloques de tejido contenidos en cestas a través de una serie de reactivos alojados

en contenedores estacionarios. El tiempo que los especímenes estuvieron sumergidos en cada contenedor de reactivo se controló electrónicamente¹³.

Por lo general, emplean sistemas de alarma y programas de diagnóstico para solucionar problemas de cualquier instrumentación.

b) Procesamiento nocturno

Para muchos laboratorios, esto se considera el programa de procesamiento de rutina. Los tejidos continúan la fijación sumergiéndolos en formalina al 10%, tamponada o sin búfer. El proceso puede incluir alcohol formalina, concentraciones variables de alcohol, xileno, o un sustituto de xileno, seguido de infiltración en cera parafina. Los horarios están personalizados para los tejidos que se están procesando. Los factores que influyen en el cronograma de procesamiento incluyen el tiempo de finalización requerido, los reactivos utilizados, la inclusión de calor y vacío y el tamaño y número de casetes de tejido procesados, se puede modificar, ajustando los tiempos para las distintas estaciones, teniendo en cuenta la hora de finalización necesario para completar el proceso¹³.

c) Procesadores rápidos alternativos

Los avances en la tecnología han conducido al desarrollo de un "procesador de tejidos rápido de entrada continua".

El procesador incluido utiliza tecnología de microondas, infiltración al vacío y reactivos patentados que se describen como "respetuosos con las moléculas". Un robot mueve los casetes de tejido a través de cuatro estaciones que contienen acetona, isopropanol, polietileno glicol, aceite mineral y parafina. Microondas y la agitación se utiliza para acelerar la difusión de disolventes en el tejido. Una tecnología de microondas patentada es utilizada, que funciona a baja potencia continúa en lugar de pulsar altos niveles de energía de microondas. La cámara de la retorta es cilíndrica; círculo de microondas alrededor de la cavidad, aprovechando el físico principio del efecto de "cámara susurrante" que elimina los puntos fríos y calientes. La ventaja de esto sistema es la aceptación de tejidos en el sistema cada 15 minutos, mejorando el tiempo de respuesta¹³.

Factores que influyen en la velocidad de procesamiento

Cuando el tejido se sumerge en líquido, un intercambio ocurre entre el líquido dentro del tejido y el fluido circundante. La tasa de intercambio de fluidos depende de la superficie expuesta del tejido que está en contacto con los reactivos de procesamiento¹³.

Varios factores influyen en la velocidad a la que se produce el intercambio: a saber, agitación, calor, viscosidad y aspiradora¹³.

Mantenimiento del procesador

Cada institución debe tener una política que describa la rotación y el cambio de soluciones en el tejido procesador. Los números, tamaños, tipos de tejido procesado y los reactivos utilizados desempeñarán un papel en la determinación de esta política. Las soluciones deben ser supervisadas cuidadosamente para garantizar la calidad. Cada fabricante tiene un manual que describe un programa de mantenimiento¹³.

Consejos de mantenimiento importantes

- Se debe limpiar cualquier derrame o desbordamiento inmediatamente
- La acumulación de cera en cualquier superficie debe ser remoto
- La temperatura del baño de cera de parafina debe establecerse a 3 ° C por encima del punto de fusión de la cera de parafina y monitoreada diariamente
- Se deben verificar los tiempos al colocar el tejido casetes en el procesador, especialmente cuando se seleccionan horarios retrasados
- Deben incorporarse descargas de agua tibia, manteniendo las líneas libres de sales, proteínas y escombros

Horarios de procesamiento automatizados

Aunque los horarios nocturnos para el procesamiento de tejidos siguen siendo populares en muchos laboratorios, horarios han cambiado para reflejar el énfasis en reducir tiempo de respuesta para la presentación de informes de muestras. El procesamiento rápido de biopsias pequeñas o especímenes estadísticos puede ser acomodado fácilmente¹³.

Programas personalizados específicos para los tejidos que son procesados, adición de vacío, agitación o calor en cualquier etapa.

- Horarios rápidos

- Contención de fluidos y humos
- Reactivos ecológicos
- Retraso de tiempo para el inicio de los programas de procesamiento
- Gestión de reactivos

Tinción de Hematoxilina-Eosina (H-E)

Se utiliza rutinariamente en histopatología para analizar diferentes tejidos del organismo, incluyendo cortes de piel¹⁵, es conocida también como la coloración de rutina que puede comportarse como una tinción regresiva cuando se utiliza como colorante nuclear, la hematoxilina de Harris o como una coloración progresiva cuando el colorante nuclear es la hematoxilina de Mayer, esto debido a la capacidad de los componentes químicos de cada colorante de interactuar con las diversas estructuras celulares que constituyen los tejidos¹⁶. Las secciones histológicas de rutina se tiñen con dos colorantes:

Hematoxilina

Es un colorante natural y se obtiene del duramen del árbol *Haematoxylum campechianum*. El nombre se deriva etimológicamente de dos palabras griegas, hematos que significa sangre y xylos que significa árbol¹⁷. Existen diferentes tipos que son:

La hematoxilina de Carazzi: es una buena tinción nuclear que proporciona poca tinción de fondo. Se puede emplear en tinciones generales junto con la eosina. Es un protocolo que se suele utilizar para una tinción progresiva¹⁸.

Hematoxilina de Ehrlich: tiene que ser oxidada a hemateína antes de ser usada como colorante y combinada con un metal que actuará como mordiente. La oxidación puede ser química o por el oxígeno mediante el envejecimiento de la solución. Es el producto oxidado de la hematoxilina, la hemateína, la que realmente se adhiere a las sustancias ácidas del tejido. Fundamentalmente tiñe el núcleo. Estas como colorante, es un componente de la H-E, probablemente la más usada en tinciones histológicas, pero también de otras como las tricrómicas donde se precisa teñir núcleos¹⁸.

La hematoxilina de Gill es una buena tinción nuclear. Se puede emplear generalmente junto con la eosina. Respecto a otras hematoxilinas es más estable y permite una reproducción más precisa. Resalta su capacidad para teñir los nucléolos. Al no tener mercurio ni alcohol es buena como tinción de contraste de otras técnicas como la inmunocitoquímica¹⁸.

La hematoxilina de Mayer es uno de los tipos de hematoxilina que se emplean normalmente en las tinciones de hematoxilina-eosina. Su modo de tinción es progresiva, es decir, cuanto más tiempo en la solución colorante más tinción se consigue en el tejido ¹⁸. Tiñe los componentes ácidos de los tejidos en color azul-violáceo (por ejemplo, los núcleos celulares)¹⁹.

Hematoxilina de Weigert o hematoxilina férrica; se utiliza para la tinción de núcleos cuando se usa a continuación una sustancia ácida. La hematoxilina se aplica junto con un mordiente que contiene aluminio potásico o aluminio amónico y por ello no se elimina en la solución ácida posterior. La hematoxilina y el mordiente se almacenan por separado y se aplican al tejido conjuntamente. El color resultante es negro o púrpura muy oscuro. Se emplea en soluciones tricrómicas como el van Gieson¹⁸.

Eosina

Es un colorante citoplasmático frecuentemente utilizado como contracolor, cambia los núcleos teñidos por el hemalumbre de un color azul a púrpura. Este cambio de color puede ser debido a la atracción de aniones de eosina a las cadenas laterales de los aminoácidos cargados positivamente del ADN, también se usa como identificador de diferentes tipos de células entre los distintos tipos de fibra del tejido conectivo y de las matrices¹⁷. Además es un colorante artificial derivado del xanteno y existen varios tipos comerciales, tiñendo con diferentes matices de rojo y rosa⁶.

Ambos son colorantes denominados panópticos: aquellos que tiñen de forma general, y no específica, todos los componentes celulares. La más popular de estas tinciones es la tinción doble de Hematoxilina-Eosina, siendo la más popular debido a su capacidad de teñir un enorme número de diferentes estructuras tisulares, a su simplicidad y a su aplicabilidad a diferentes tejidos de procedencias diferentes. La hematoxilina es un contraste básico y por lo tanto se unirá a las estructuras ácidas (ácidos nucleicos). La eosina es un colorante ácido y se unirá a las estructuras básicas (proteínas básicas)⁶.

Aquellas estructuras con un pH intermedio se teñirán con ambos colorantes. Esencialmente la hematoxilina tiñe los núcleos de color azul negruzco, con buen detalle intracelular, mientras que la eosina tiñe el citoplasma celular y la mayoría de las fibras del tejido conectivo con distintas tonalidades de rosa, naranja y rojo⁶.

La eosina es el resultado de la acción del bromo sobre la fluoresceína. En la actualidad hay dos compuestos conocidos y que están estrechamente relacionados: la eosina Y (C₂₀H₈Br₄O₅, tetrabromofluoresceína, CI 45380, CI 45386), conocida como eosina amarilla, y la eosina B (C₂₀H₈Br₂N₂O₉, dibromodinitrofluoresceína, CI 45400), también conocida como eritrosina B azulada. La eosina Y es la más empleada en procedimientos rutinarios histológicos, como tinción de contraste en la técnica de la Hematoxilina Eosina, y su preparación alcohólica es un paso obligado en la Técnica de Papanicolaou, también colorea componentes y orgánulos citoplasmáticos, colágeno y fibras musculares, pero no los núcleos (que son básicamente ácidos nucleicos y están cargados negativamente)²⁰.

La coloración de Hematoxilina-Eosina

Se considera como la técnica de tinción de uso más frecuente en el estudio de células y tejidos, a través del microscopio fotónico.

Consiste en la tinción de:

- a) los núcleos mediante una hematoxilina, previamente oxidada y transformada en hemeína a la que se le añade una sustancia mordiente para formar una laca (para tal fin se usan sales metálicas de aluminio, plomo o hierro). Los núcleos se colorean de azul, azul morado, violeta, pardo oscuro o negro, dependiendo de los agentes oxidantes y mordientes que se utilizaron¹².
- b) el citoplasma y material extracelular utilizando la eosina que les confiere diversos grados de color rosado¹².

El procedimiento de coloración de H-E es el siguiente:

1. Desparafinar los cortes en xilol.
2. Hidratar los cortes en baños decrecientes de alcohol.
3. Colorear con la solución de hematoxilina. En este paso es conveniente respetar el tiempo de coloración que recomienda cada tipo de solución de hematoxilina. Dependiendo de la fórmula de preparación el tiempo puede variar de 3 a 20 minutos.
4. Lavado en agua destilada.

5. Diferenciar, para eliminar el exceso de colorante, se emplea el alcohol ácido, hasta que los núcleos y los componentes basófilos de las células sean los únicos que permanezcan teñidos.
6. Lavar en agua corriente.
7. Virar al color azul.
8. Deshidratar en baños crecientes de alcohol etílico.
9. Diafanizar o aclarar empleando xilol.

En estas condiciones los tejidos están preparados para realizar en ellos el montaje.

Resultados

- Núcleo celular: Azul
- Citoplasma: Rosa
- Musculatura: Rojo , rosa o fucsia
- Glóbulos rojos: Rojo, anaranjado
- Fibrina: Rosa²⁰.

Tinción de Giemsa

Es uno de los procedimientos estándares en histología, usados para teñir muestras especiales como médula ósea, amígdalas y ganglios linfáticos debido a su alta proporción de células. Además demuestra las diversas células con sus características morfológicas mejor de lo que puede ser la H-E. Así también se puede utilizar para detectar *Helicobacter Pylori* en biopsias de tejido gástrico. El material de muestra se ve afectado por tratamientos previos, como la fijación y procesamiento histológico, los núcleos celulares se tiñen de distintos tonos de azul, mientras que otras estructuras son visualizadas en varios tonos rojos²¹.

Rodak (2009), menciona que está constituida por la mezcla de 2 colorantes primarios, el Azul de metileno (es un colorante básico, en las células se une a sustancias ácidas que se tiñen de color azul) y la eosina (es un colorante ácido, en las células se unen a las proteínas básicas que se observan de color naranja), Durante el proceso de maduración de los colorantes de Romanowsky, el azul de metileno se oxida dando lugar a colorantes secundarios. Los más importantes son de color azul brillante, que son también colorantes metacromáticos²².

La tinción de Giemsa emplea como colorante fundamental, una mezcla de tiacínicos catódicos, como el azul A,B y azul de metileno, que colorean el núcleo, mientras que la eosina se usa para coloración citoplasmática, estas sustancias están disueltas en alcohol metílico²².

Según Rodak (2009), Las posibles causas de error en el momento de la observación del frote pueden ser²²:

a) Tinción demasiado azulada:

1. Extensión demasiado gruesa.
2. Excesivo tiempo de tinción.
3. Lavado con poca cantidad de agua.
4. Alcalinidad del colorante, del agua o tampón.

b) Tinción demasiado rosada:

1. Tinción insuficiente.
2. Excesivo tiempo de lavado.
3. Acidez del colorante o tampón.

c) Otras causas de error:

1. Utilización de porta objetos sucios.
2. Secado del colorante durante el periodo de tinción.
3. Lavado inadecuado durante la tinción.
4. Presencia de polvo en el portaobjeto.
5. Mala filtración del colorante antes de su uso.
6. pH inadecuado del colorante o los diluyentes.
7. Agua destilada a pH inadecuado.
8. Precipitación del colorante sobre el portaobjeto debido a inadecuado lavado o uso del colorante que no ha sido filtrado adecuadamente.

Para la tinción de Giemsa aplicada a cortes incluidos en parafina, es importante utilizar baños de clarificación por separado, con xileno, debido a que trazas de etanol en las soluciones pueden producir decoloración. El pre-tratamiento de la médula ósea y punciones de cresta ilíaca con la solución para descalcificación leve, produce resultados óptimos. Las muestras de punciones fijadas se colocan durante 6 horas en OSTEOSOFT para una descalcificación

suave, y posteriormente se someten a procesamiento histológico convencional. Los bloques se cortan cuidadosamente y, si es necesario, tratados nuevamente por 20 min. Con descalcificante llamado OSTEOSOFT²¹.

Protocolo de la tinción

1. Desparafinar los cortes de forma habitual y rehidratar
2. Enjuagar con agua destilada por 10 seg.
3. Teñir en Azur-eosina-azul de metileno según Giemsa en solución no diluida, filtrada por 15 min
4. Ácido acético al 0,1% por 10 seg.
5. Enjuagar con agua destilada 10 seg.
6. 2-Propano, 10 seg.
7. 2-Propanol, 10 seg.
8. 2-Propanol, 10 seg.
9. Xileno o Neo-Clear por 5 min.
10. Xileno o Neo-Clear por 5 min.

Resultados

- Núcleo celular, células: azul, azul oscuro
- Colágeno, osteoide: azul pálido
- Granos eosinofílicos: rojo
- Mucopolisacáridos acidofílicos, mastocitos, matriz de cartílago: violeta rojizo
- Materiales acidofílicos: rojo naranja

Es importante que la dilución del Giemsa deba ser preparada en el instante en que se va a usar y jamás antes, dado que el colorante produce su efecto máximo en el momento en que la solución stock se adiciona al agua.

No teñir nunca las preparaciones cerca de humos de ácidos o álcalis fuertes. La tinción en extensiones sobre porta-objetos se realiza en general de tal manera que ésta queda cubierta por la solución colorante con una capa de 2 mm aproximadamente de espesor pero evitando que se derrame por los bordes. Si se aplica una cantidad demasiado pequeña de solución de colorante se pueden producir precipitados del colorante²².

Tinción Papanicolaou

En los últimos años se ha utilizado el Papanicolaou para este diagnóstico, debido principalmente al uso rutinario de la citología en la detección precoz de cáncer cervical, posibilitando su utilización para el diagnóstico de infecciones cervicovaginales²³, se aplica a exudados vaginales para la detección de cáncer uterino o vaginal²⁴. La técnica utiliza un elevado número de colorantes en su procedimiento.

- Hematoxilina: es la tinción nuclear escogida, permite básicamente revelar los núcleos de las células presentes en la muestra. Suele usarse Hematoxilina de Harris.
- Orange G: es un colorante sintético de carácter ácido que revela compuestos básicos como la prequeratina (que tiñe de color rosado) o la queratina (que tiñe de color naranja brillante).
- Eosina amarillenta: tiñe de color rosa-anaranjado el citoplasma de las células escamosas maduras, de las células ciliadas y de los eritrocitos.
- Verde Luz SF amarillento: tiñe de color verde-azulado las células escamosas no superficiales (inmaduras o a parcialmente maduras).
- Pardo Bismark R: no tiñe el citoplasma pero si la mucina.
- Ácido fosfotúngstico: tiene una función mordiente, especialmente importante para el Verde Luz SF.

Reactivos y presentación:

Hematoxilina

A cada 100 ml del colorante se contiene²⁵:

- Hematoxilina: 0,5 g
- Sulfato de aluminio y potasio: 10 g
- Alcohol 96%: 5mL
- Óxido de mercurio: 0,2 g

EA-36

A cada 100 ml del colorante se contiene: Verde Luz: 0,25 g

- Bismarck Brown: 0,05 g
- Eosina amarilla: 0,25 g
- Alcohol 96%: 100 mL

OG-06

A cada 100 ml del colorante se contiene:

- Naranja G: 0,5 g
- Alcohol 96%: 100 mL¹³

ASPECTOS PRINCIPALES QUE DEMUESTRA LA TINCIÓN DE PAPANICOLAOU EN MUESTRAS DE CÉRVIX UTERINO

- Diferenciación de los detalles y constituyentes celulares.
- Resalta lo más posible la estructura nuclear y suavemente el citoplasma, permite indicar si es eosinófilo o basófilo²⁶.
- En citología es muy importante la calidad de la tinción del núcleo por que la distinción entre células benignas y malignas se basa en la morfología de la cromatina nuclear²⁶.
- La tinción del citoplasma proporciona información adicional respecto al origen, la maduración celular y su actividad metabólica²⁶.

Procedimiento

- Fijar la muestra con spray.
- Sumergir sucesivamente en alcohol 80%, alcohol 70%, alcohol 50% y agua, 1 minuto en cada líquido²⁴.
- Teñir con Hematoxilina de Harris solución durante 5 minutos aproximadamente.
- Sumergir en agua 6 veces durante 1 segundo.
- Sumergir en Ácido Clorhídrico 0,5%, 8 veces durante 1 segundo.
- Lavar con agua corriente durante 5 minutos, y pasar la muestra por alcoholes de grado sucesivo, 50%, 70%, 80% y 96% durante 30 segundos en cada uno de ellos²⁴.
- Teñir con Solución de Papanicolaou OG 6 de 1 a 1,5 minutos.
- Lavar el exceso de colorante en dos baños de Etanol 96% sumergiendo la preparación 2 veces en cada uno de 3 a 4 segundos.
- Teñir con Solución de Papanicolaou EA 50 de 1,5 a 2 minutos.
- Lavar en 3 recipientes distintos de Etanol 96% v/v sumergiendo la preparación 2 veces de 3 a 4 segundos en cada uno de ellos.
- Lavar en Etanol absoluto durante 30 segundos.
- Sumergir la preparación durante 4 minutos en un baño 1:1 de Xileno, mezcla de isómeros y Etanol absoluto.

- Aclarar con Xileno, mezcla de isómeros sumergiendo la preparación durante 3 minutos en un baño.
- Montar con medio de montaje.
- Observar al microscopio²⁴.

Control de calidad y laboratorio

En la histopatología(o citología), recibimos el tejido o muestra, procese la muestra, haga la sección teñida en el portaobjetos para la interpretación y finalmente informar la muestra de tejido. Esto es muy similar a la empresa industrial. Mantenimiento riguroso de calidad o estándar también se necesita para una buena servicio de laboratorio²⁷.

Objetivos del control de calidad.

Los principales objetivos del control de calidad son:

1. Dar un informe de prueba correcto y completo al paciente
2. Generar y entregar el informe en un período mínimo de tiempo.
3. Mantener la ética y el servicio profesional.
4. Brindar un excelente servicio al paciente para que satisfice al paciente
5. Proporcionar formación continua y actual educación al personal del laboratorio²⁷.

Requisitos técnicos esenciales para la calidad Control.

1. Diseño del laboratorio: debe estar diseñado de tal manera que tenga espacio suficiente para recibir la muestra, procesar, teñir y para la interpretación del área de almacenamiento. Además necesita contar con una ventilación adecuada y una disposición de seguridad²⁷.
2. Alcance e instalaciones generales del laboratorio: deben estar claramente documentado, tener una descripción detallada de todas las pruebas en el laboratorio para los pacientes²⁷.
3. La definición de trabajo del personal de laboratorio: Las responsabilidades laborales de las diferentes categorías del personal de laboratorio deben ser claramente descrito, competente y con licencia profesional para practicar el trabajo respectivo²⁷.

4. Recursos económicos: es necesario conocer la asignación del presupuesto financiero general para el personal de laboratorio, equipos, productos químicos, etc. Este conocimiento del presupuesto financiero da la idea de la capacidad del laboratorio para satisfacer las necesidades del cliente²⁷.
5. Equipos y reactivos de laboratorio: Se necesitan equipos y reactivos estándar. Para proporcionar cortes y frotis bien teñidos de buena calidad, se debe actualizar periódicamente, tener un libro de registro adecuado que mencione el uso de los equipos, fecha de compra y fecha de caducidad de los productos químicos.
6. Asegurar la calidad del procesamiento o informes: la calidad del procesamiento debe comprobarse y registrarse periódicamente. De manera similar, la calidad de los informes se verifica periódicamente²⁷.
7. Servicio de información de laboratorio (LIS): LIS genera un número de acceso único de la muestra. Este número proporciona la identificación de la muestra o sección. Los pacientes historia clínica y otros necesarios²⁷.

El control de calidad implica tres pasos importantes

- Fase preanalítica: comienza con la recepción de la muestra hasta el procesamiento final para la presentación de informes²⁷.
- Fase analítica: Implica principalmente la interpretación de la prueba o portaobjetos (en caso de servicio de histopatología o citología)²⁷.
- Fase postanalítica: es la fase que implica la entrega de informes, el almacenamiento de diapositiva, revisión de la diapositiva o prueba²⁷.

Estándar dorado

El informe final de histopatología es el oro de los casos de citología. El seguimiento clínico del paciente es lo último estándar dorado. La opinión del experto externo podrá tomarse en consideración como sentencia firme. En caso de muerte, el informe final de la autopsia debe considerarse como el patrón oro²⁷.

Tipo de errores

Cambio categórico: benigno versus maligno

- Error al escribir: el tipo de malignidad es incorrecto hecho.
- Error de clasificación.

- Error en la afectación de ganglios linfáticos.
- Error en la interpretación del margen del espécimen de tumor resecado.
- Error en la identificación del lado: derecho versus izquierdo.
- Error en la identificación del paciente.

La rectificación del error es fundamental corregir el error detectado.

- El nuevo informe revisado puede consistir en:
- Diagnóstico corregido.
- Información corregida.
- Cualquier información adicional debe incluirse como nota a pie de página ²⁷.

Este documento describe los procesamientos de las coloraciones de manera secuencial para realizar con efectividad, oportunidad y seguridad todo el proceso. Utilizando las coloraciones de rutina Hematoxilina-Eosina, Tinción de Giemsa y Tinción Papanicolaou como herramienta fundamental para un diagnóstico²⁶.

En el capítulo I. Se desarrolla el procesamiento de tejido utilizadas en los estudios de microscopía óptica, se engloba en la técnica histológica, para lo cual se recurre especialmente el proceso de coloración de un cuerpo, donde nos permite visualizar los tejidos².

Capítulo II. Se describe la metodología, esta investigación es de tipo bibliográfico, con un diseño documental que busca enfocar la atención y curiosidad en desarrollar el tema.

Capítulo III. Se realiza el desarrollo y análisis de resultados.

CAPÍTULO II. METODOLOGÍA

El presente estudio tiene un enfoque mixto, porque se ejecutó por medio del análisis de datos existentes en otros documentos científicos publicados anteriormente en distintas plataformas de investigación.

Es de nivel descriptivo porque permitió detallar las variables, haciendo énfasis en qué y cómo se manifiestan por medio de conceptos, procesamientos y estudios sobre coloraciones rutinarias utilizadas en el área de Anatomía Patológica para luego ser sometida a un análisis.

Según el diseño es no experimental por que no se manipularon las variables de estudio. Es de tipo documental-bibliográfico, porque está basada en una revisión bibliográfica de libros, manuales, atlas, artículos científicos e investigaciones publicadas en sitios web oficiales.

La secuencia temporal es transversal porque se realizará en un solo bloque de resultados en un periodo de tiempo determinado entre 2010-2021. La cronología de los hechos va a ser de tipo retrospectivo ya que el inicio de la investigación es posterior a los hechos estudiados, es decir que la información se obtendrá de archivos, documentos y publicaciones.

La población de estudio quedó conformada por la totalidad de (59) artículos científicos (libros, revistas, artículos, etc.) en los que se abordó la temática sobre las coloraciones de rutina utilizadas en tejido humano, publicados en revistas de impacto regional y mundial como Scielo, Latindex, Pubmed, Medigraphic y Dialnet, divulgados entre el periodo comprendido entre 2010 – 2021.

La muestra del proyecto investigativo está conformada con un total de (40) fuentes bibliográficas, de las cuales (5) pertenecen a libros, (1) a páginas web, (20) artículos científicos de diversas revistas como: (5) de Scielo, (1) de Revista de Latindex, (1) de Revista UTA, (1) de la Revista Médica Hondureña, (1) de Renylab, (3) de Medigraphic , (3) de Pubmed , (1) de Dialnet y (1) de Rev.Medica.Sanitas, (1) Redalyc, (1) Rev Bioanálisis y (1) Rev Med Panamericana se utilizaron (10) tesis de: (1) de la Universidad Norbert Wiener, (1) de la Universidad de Ambato, (2) de la Universidad Pontificia del Ecuador, (1) de la Universidad de San Carlos de Guatemala, (1) de la Universidad Javeriana, (1) de la Universidad de Zaragoza, (1) de la Universidad Nacional de Educación de Distancia, (1) de

la Universidad Nacional de Chimborazo y (1) de la Universidad Central del Ecuador, se usaron (4) bibliografías de manuales, guías y atlas, es decir: (1) Manuales, (1) guías y (2) atlas.

Se tomó en cuenta reportes científicos publicados en los últimos 10 años, para garantizar la actualidad de la información. Además, se consideró en cuenta el idioma en español, inglés y portugués, debido a que la mayoría de los documentos científicos en el área de salud se publican en estos idiomas.

De igual forma se tomaron criterios de exclusión para el estudio entre ellos están aquellos documentos científicos con publicaciones de más de 12 años sin relevancia en su contenido, así como también se excluyeron los artículos relacionados con coloraciones especiales, debido a que el tema del presente trabajo trató acerca de coloraciones de rutina.

Para ejecutar el estudio se realizó una búsqueda exhaustiva en la cual, al escribir en los motores de búsqueda, coloración de rutina se obtuvo 2.260.000 resultados en 0,53 segundos, mismos que fueron sintetizados en el rango de tiempo desde 2010-2021 en 0,07 segundos se obtuvo 10.700 resultados. Para simplificar la información en los buscadores se digitó coloración de rutina en tejido humano, en 0,06 segundos, se obtuvo 7.870 resultados y con la intención de obtener información libre se aplicó este criterio de selección en la búsqueda avanzada y se consiguió en 0,02 segundos 3.360 resultados para la investigación.

La información conseguida fue muy amplia con enfoque no conveniente para la investigación, por tal razón se buscó como coloración de rutina utilizando Hematoxilina-Eosina y se obtuvo en 0,04 segundos 283 resultados, de esta búsqueda se tomó artículos de alta relevancia con una población de 59 referencias bibliográficas publicadas en revistas de gran impacto.

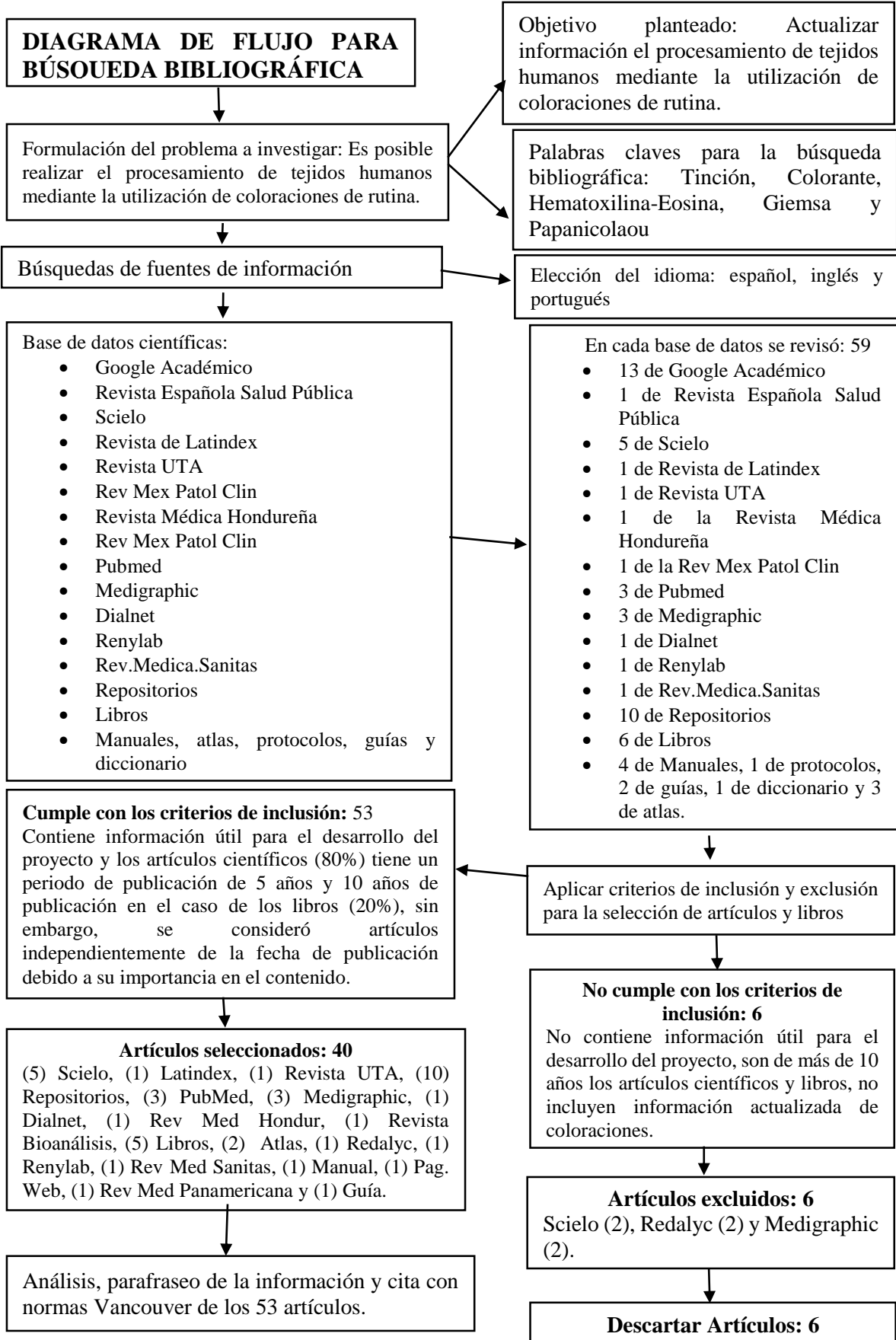
La estrategia utilizada para filtrar la búsqueda de artículos incluidos en esta revisión, se realizó utilizando los operadores booleanos “and”, “y”, “or”, “o”, Además, se empleó combinaciones de palabras clave como: “técnicas de tinción”, “coloraciones de rutina”, “tejido humano”, “técnicas histológicas”, “routine colorations”. Por último, la información fue buscada en libros sobre procesamiento de tejido humano, manuales y guías de técnicas histológicas.

El análisis de la información que se realizó fue en base a la lectura crítica y comprensiva de cada documento, en el cual las publicaciones fueron analizadas para escoger la muestra de acuerdo a los autores, objetivo de estudio, características metodológicas, resultados y conclusiones, obteniendo 40 fuentes bibliográficas.

De los 53 documentos revisados: 13 se emplearon para la elaboración de la introducción, en las que se contempla la importancia de la investigación y la fundamentación teórica, mientras que 40 se emplearon para el análisis de caso o discusión de las siguientes revistas: (5) Scielo, (1) Latindex, (1) Revista UTA, (10) Repositorios, (3) PubMed, (3) Medigraphic, (1) Dialnet, (1) Rev Med Hondur, (1) Revista Bioanálisis, (5) Libros, (2) Atlas, (1) Redalyc, (1) Renylab, (1) Rev Med Sanitas, (1) Manual, (1) Pág. web, (1) Rev Med Panamericana y (1) Guía. Detalladamente se analizaron 15 artículos en español, 3 en inglés, 1 en portugués, 10 tesis de posgrado y pregrado; 6 libros electrónicos, 7 sitios o portales web y 11 entre manuales, guías, protocolos, diccionario y atlas.

Finalmente, no se tomó en cuenta las consideraciones éticas ya que, al ser un documento de carácter bibliográfico, mismo que se basó en fuentes primarias y secundarias de investigación, respeta los principios bioéticos y no requiere aprobación del comité del mismo.

Procedimiento:



CAPÍTULO III. DESARROLLO

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la realización de esta investigación se escogió como muestra 40 fuentes Bibliográficas que fueron empleadas en este capítulo mediante el uso de diversos documentos científico como Scielo, Revista Española Salud Pública, Latindex, Revista Médica Hondureña, Rev Mex Patol Clin, Libros, Manuales, Protocolos y Guías utilizando diferentes criterios de inclusión como el año de publicación del artículo, donde se ha seleccionado como punto de referencia desde año 2010 hasta el año 2021, se eligió artículos en idiomas como español, inglés y portugués por motivo que hay artículos que aportaron información muy valiosa para el estudio.

Análisis e interpretación

En la tabla 1, se presenta un análisis comparativo de algunos autores utilizando diversas técnicas de tinciones que se emplean a menudo en biopsias gástricas.

Tabla 1. Técnicas de tinciones más utilizadas para biopsias gástricas

Tipos de Tinciones	Frecuencia de uso según autores	Autores
Hematoxilina Eosina y Giemsa	6	Toro M. (2010) Montalvo C. (2015) Escudero N. (2015) Megías M. et al. (2018) Carreño Y. (2010) Santos S. (2017)
Hematoxilina-Eosina y Warthin Starry	1	Ahumada et al. (2019)
Giemsa y Warthin Starry	2	Vásconez et al. (2017) Díaz X. et al. (2013)
Hematoxilina Eosina y tinción del cristal violeta	2	Amores et al. (2010) Megías M, et al. (2018)

Hematoxilina Eosina, Giemsa y Papanicolaou	1	Omiste I. (2011)
-	28	No se registran el uso de técnica alguna

Discusión

Toro M. (2010), señala lo siguiente. El método diagnóstico más empleado y práctico en la mayoría de hospitales es la identificación histológica invasiva endoscópica en muestras de tejido tomadas del antro gástrico principalmente. Realiza un estudio histológico donde utiliza diversas técnicas de coloración que incluyen: Warthin Starry, Giemsa, Hematoxilina-Eosina, entre las pruebas no inmunológicas, se concluyen que la coloración con Giemsa es la favorita para la identificación en base a su buena sensibilidad, excelente especificidad y además que no presenta dificultades técnicas en su preparación, comparada con la Hematoxilina-Eosina que poseen aceptable sensibilidad del 90% y 98% respectivamente, la tinción H-E es un método económico para identificar pero con un rendimiento particularmente inferior que la tinción Giemsa pero es una prueba aceptable²⁸.

Escudero N. (2015), menciona que al realizar una comparación entre la tinción de Giemsa con Hematoxilina-Eosina (H-E) se encontró en este estudio una sensibilidad y especificidad baja 78% y 70% respectivamente con un valor predictivo positivo de 66% y un valor predictivo negativo del 80%, donde nos indica que Giemsa presenta una mayor eficacia para detectar a pacientes realmente sanos con un test negativo, por lo tanto se ha tomado como estándar a la tinción de H-E que está validada a nivel mundial para el estudio de muestras histopatológicas, donde la placa teñida con H-E tarda un promedio de 2 minutos con 15 segundos en ser evaluada por la médica Patóloga, en comparación con Giemsa el tiempo se reduce a 1 minuto. Por lo tanto podemos deducir, que el tiempo de demora con tinción Giemsa, se reduce a la mitad²⁹.

Ahumada et al. (2019), argumenta que la tinción Warthin Starry (WS) es más eficaz que la H-E para diagnosticar la presencia de la bacteria en gastritis de patrón folicular, teniendo en cuenta que se podría considerar aplicarla dentro de los protocolos diagnósticos en los laboratorios de patología locales como tinción inicial, por lo cual esta práctica no es utilizada por la mayoría de patólogos, al no evidenciar inicialmente el bacilo, el cual se expone al usar la WS, considerando que representa un valor económico elevado en su implementación en

el laboratorio y una laboriosidad mayor en la preparación de los reactivos los cuales no están disponibles comercialmente en nuestro medio, siendo más costoso el diagnóstico. A partir de ello, se pretende un diagnóstico y un tratamiento precoz, a fin de evitar las secuelas de esta bacteria, principalmente el cáncer gástrico. Finalmente comenta que en las últimas décadas, el tejido gástrico se determina a partir de la tinción de Hematoxilina-Eosina (H-E), como prueba rutinaria, mientras que en pocas ocasiones se aplica la tinción de Warthin Starry (WS) como coloración especial³⁰.

Vásconez et al. (2017), concluye en su trabajo realizado en biopsias gástricas teñidas con Hematoxilina-Eosina que el tejido se encuentra muy borroso y puede ser enmascarada por la presencia de moco superficial, siendo menos sensible, por lo que la visualización microscópica no es confiable para proporcionar un diagnóstico, por este motivo se realiza una comparación entre el método de coloración Giemsa y Warthin Starry donde se estableció como método de coloración de rutina para la identificación de *Helicobacter Pylori* al método de Warthin Starry, porque este identificó el 100% de las muestras confirmadas al presentar una infección por esta bacteria, mientras que la tinción Giemsa identificó el 60%, por ende se constituyó que la técnica de Warthin Starry es una técnica de coloración complementario para el estudio de muestras histopatológica porque además de identificar al microorganismo, permite identificar características celulares de la mucosa gástrica³¹.

Carreño Y. (2010), menciona que la histología con tinciones Hematoxilina y Giemsa es el Gold estándar lo que beneficiaría la introducción de estos métodos, que se podría convertir en una excelente herramienta teniendo como ventajas que son métodos muy fáciles de realizar y arrojan resultados en un periodo corto, además se pueden emplear en todo tipo de pacientes pues no tienen muchas contraindicaciones. Por ende estos dos métodos diagnósticos permiten realizar un seguimiento al tratamiento, es decir estos métodos se considera sensibles y específicos después de la erradicación del microorganismo³².

Amores et al. (2010), el trabajo realizado radica en los métodos de tinción más utilizados en hoy en día, siendo la Hematoxilina-Eosina, Giemsa, Cristal Violeta y Warthin Starry, así como las tinciones inmunohistoquímicas. Ninguna de las tinciones mencionadas anteriormente es específica para el *Helicobacter Pylori*. La tinción con H-E es la más utilizada en la actualidad, teniendo su principal ventaja, que permite el diagnóstico y la graduación de la lesión histológica asociada; esta técnica presenta un inconveniente que

requiere una experiencia superior a la de otras técnicas para establecer un correcto diagnóstico. La desventaja es que debe existir una alta densidad de colonias bacterianas para que sea posible reconocer el microorganismo, por el cual queda teñido débilmente y puede confundirse con productos celulares y moco³³.

Por estas razones mencionadas, la mayoría de los patólogos recomiendan realizar siempre una tinción especial además de H-E. La técnica de tinción del Cristal Violeta es utilizada de rutina en el Departamento Provincial de Microbiología para el diagnóstico del *Campylobacter Yeyuni*. Con base en esa experiencia se intentó aplicarla al *Helicobacter Pylori*, el cual se consiguieron resultados muy seguros comparados con la técnica de Hematoxilina-Eosina, utilizándola tanto en frotis microbiológicos como en tinción histológica. La técnica proporciona especificidad diagnóstica, facilitando la efectividad terapéutica con un mínimo de costos³³.

Omiste I. (2011), sostiene lo siguiente:

Tinción con Hematoxilina-Eosina. Es la técnica más empleada para el diagnóstico de las muestras incluidas en parafina. Su principal ventaja es que permite el diagnóstico y la gradación de la lesión histológica asociada, es una técnica fácil de hacer, utilizada principalmente en los laboratorios de anatomía patológica, lo que no añade costes ni tiempo al procesamiento de las biopsias. Presenta un inconveniente ya que requiere una mayor experiencia que otras técnicas para formar un correcto diagnóstico de la presencia o no de *Helicobacter Pylori*, por lo que se la considera una tinción para Histopatólogos experimentados³⁴.

Tinción de Giemsa: A diferencia de la anterior, esta permite una fácil y nítida identificación de *Helicobacter Pylori*, que surge teñida de azul intenso sobre un fondo azul luminoso en el moco gástrico, en el epitelio superficial y en las criptas. Por su simplicidad, rapidez y bajo coste se la considera la tinción de elección, sin olvidar los resultados falsos positivos que puede proporcionar³⁴.

Tinción Papanicolaou: Esta tinción se ha empleado como método diagnóstico de la infección por *Helicobacter Pylori*, la elaboración de una citología de la mucosa gástrica obtenida mediante cepillado endoscópico, la extensión se realiza rozando el cepillo sobre un porta de cristal y posteriormente se visualiza por tinción de Papanicolaou, este método tiene el inconveniente de que el cepillado produce una rotura del epitelio y de la barrera mucosa, con lo que *Helicobacter Pylori*, queda expuesto a la acción del ácido gástrico, lo cual puede

explicar la baja sensibilidad observada con este método en algún estudio. A pesar de su facilidad, es un método que no se ha popularizado³⁴.

Análisis e interpretación

En la tabla 2 se menciona los diferentes tipos de fijadores que se utilizan en el procesamiento de los tejidos humanos en el área de anatomía patológica.

Tabla 2: Tipos de fijadores mencionados por diferentes autores

Tipos de Fijadores	Frecuencia	Autores
<ul style="list-style-type: none"> • Glutaraldehído • Tetróxido de osmio 	2	Brüel et al. (2012) Welsch U. (2014)
<ul style="list-style-type: none"> • Formalina • Otros fijadores (dicromato y ácido bórico) 	4	Ross y Pawlina 7.a (2015) Ross y Pawlina 8.a (2020) Hilario E. (2011) Megía M. et al. (2018)
Cloruro de mercurio	1	Suvarna et al. (2013)
-	33	No se mencionan fijadores

Discusión

Brüel et al. (2012), manifiesta que el manejo de estos fijadores Glutaraldehído y Tetróxido de osmio, mantienen las estructuras originales del tejido, fijan el espécimen, se enlazan con las membranas lipoproteicas y así logra obtener un mayor contraste en la imagen del microscopio electrónico. Esto se debe por el aumento de la dispersión de electrones en la membrana a causa del elevado número atómico del osmio, por lo que se habla de contrastado en lugar de "tinción"³⁵.

Ross y Pawlina (2015-2020), mencionan que el fijador más utilizada comúnmente es la formalina, una solución acuosa de formaldehído al 37 %, en diluciones variadas y en combinación con otras sustancias químicas y amortiguadores, conserva la estructura general

de la célula y de los componentes extracelulares al reaccionar con los grupos amino de las proteínas³⁶.

Este formaldehído no altera de forma específica de la estructura tridimensional, las proteínas conservan su capacidad para reaccionar con anticuerpos específicos. La solución comercial estándar de formaldehído amortiguado con fosfatos (pH 7) actúa con lentitud, pero penetra bien en el tejido. Presenta un inconveniente al no reacciona con los lípidos (tejido adiposo), es un pésimo fijador de las membranas celulares, el cual requieren de fijadores especiales con metales pesados como el permanganato de Osmio que se adhieren a los fosfolípidos por ejemplo: el uso rutinario de tetróxido de osmio como fijador de la microscopia electrónica es la razón principal del excelente estado de conservación de las membranas en las fotomicrografías electrónicas³⁷.

Suvarna et al. (2013), en su estudio realizado sostiene que se utiliza raramente el Cloruro de mercurio en el laboratorio clínico por los problemas de salud y seguridad relacionadas con el uso de un fijador que contiene mercurio, presenta desventajas como la formación de depósitos negros precipitados de pigmentos mercurícos de los tejidos que resultan un valor inferior para estudios inmunohistoquímicos y moleculares¹³.

Cuando se presenta tejidos frescamente fijados estos precipitados pueden ser sencillamente eliminados por un paso de yodo Lugol en el procedimiento de tinción, a continuación de la solución de hipoclorito de sodio. Por lo tanto, esto no es efectivo en tejidos fijados con cloruro de mercurio que se han acumulado durante varios años como bloques de parafina¹³. La utilización de fijadores a base de mercurio deben ser manipulados con rigurosidad, para evitar entrar en contacto con el metal se debe disolver en agua destilada para prevenir la precipitación de sales de mercurio, por lo que son fijadores que penetran lentamente, por esta razón las muestras tienen que ser delgadas. Los fijadores de mercurio no se usan de forma rutinaria únicamente se los emplea para fijar tejidos hematopoyéticos, se tiene un reemplazo para el cloruro de mercurio es el sulfato de zinc que proporciona un mejor detalle nuclear y mejora la penetración tisular¹³.

Análisis e interpretación

En la tabla 3 se menciona las diferentes técnicas utilizadas para la coloración rutinaria de algunos tejidos humanos y además otras técnicas que se utilizan para tener un mejor diagnóstico.

Tabla 3: Coloraciones de rutina para diferentes tipos de tejidos humanos

Tejido	Técnica	Autor
<ul style="list-style-type: none"> Hígado 	<ul style="list-style-type: none"> Hematoxilina-Eosina Tinciones especiales 	Bruguera M. (2016)
<ul style="list-style-type: none"> Muscular 	<ul style="list-style-type: none"> Hematoxilina-Eosina Tricrómica de Gomori 	Rosero et al. (2014)
<ul style="list-style-type: none"> Piel 	<ul style="list-style-type: none"> Hematoxilina-Eosina Ácido Peryódico de Schiff (PAS) 	Ocampo et al. (2012) Mestanza R. (2015)
<ul style="list-style-type: none"> Bucal 	<ul style="list-style-type: none"> Hematoxilina-Eosina 	Sulbarán A. y Bustillo J. (2016)
<ul style="list-style-type: none"> Cervical 	<ul style="list-style-type: none"> Papanicolaou 	Valera S. (2010) Rodríguez V. et al. (2014) Belalcazar Y. (2014) Contreras R. (2015) López P. et al. (2015) Parquet R. (2015) León M. (2013)
<ul style="list-style-type: none"> Glándula mamaria Sistema nervioso central Tiroides Ganglio linfático Tejidos blandos 	<ul style="list-style-type: none"> Hematoxilina-Eosina Papanicolaou 	Gómez et al. (2012) Calá G. et al. (2014) Verdin S. et al. (2015)

<ul style="list-style-type: none"> • Genital femenino • Cabeza y cuello • Hígado, vías biliares y páncreas • Genital masculino • Hueso • Misceláneos • Pulmón • Ovario • Glándula salival 		
<ul style="list-style-type: none"> • Cervical • Gástrico 	<ul style="list-style-type: none"> • Hematoxilina-Eosina • Papanicolaou 	Armaudo M. y Konicoff A. (2013) Villa M. et al. (2012) Sataloff R. et al. (2017)
-	22	No se registraron uso de técnica alguna

Discusión

Bruguera M. (2016), argumenta en su trabajo titulado Guía para la interpretación de la biopsia hepática o el examen metódico, donde la tinción que se emplea sistemáticamente para el diagnóstico histopatológico de las biopsias es la Hematoxilina-Eosina (H-E), que es la que comúnmente el patólogo inicia la revisión. El manejo de tinciones especiales para un apropiado examen provee una mayor seguridad en la interpretación de los hallazgos morfológicos interpretados con la tinción de H-E, y en ocasiones permite apreciar alteraciones que eran inaparentes o que habrían pasado desapercibidas en el examen³⁸.

Según Rosero et al. (2014), en su trabajo realizado consideran que en los diferentes laboratorios de Colombia la fijación con formol y la tinción con Hematoxilina-Eosina son métodos frecuentemente utilizados en el estudio de las biopsias musculares, que establecen la calidad del procesamiento de la muestra, ofrecen una información restringida sobre algunos los cambios que ocurren en el tejido muscular. Por tal motivo, en Colombia el diagnóstico se hace por medio de la tinción con Hematoxilina-Eosina³⁹. Esta tinción hace parte de las técnicas de confirmación del diagnóstico de miopatías, debido a que permite

determinar la estructura general del tejido muscular, el tamaño, el contorno y el diámetro de las fibras musculares y la presencia de infiltrado inflamatorio³⁹.

El tejido muscular estriado esquelético está compuesto por la asociación entre los miocitos (fibras musculares), proteínas estructurales y tejido conectivo, lo que mantiene la estabilidad mecánica necesaria para ejercer la función contráctil. Así mismo es indispensable conocer las características histológicas normales de este tejido para establecer los parámetros anormales indicativos de una alteración tisular propia de una miopatía, es decir, el análisis de las biopsias musculares evidencia alteraciones en el tejido como cambios en la forma y el tamaño celular, en la proporción de las fibras, la constitución del tejido conectivo y, en algunos casos, la acumulación intracelular de otros elementos como el glucógeno³⁹.

Las tinciones de histoquímica convencionales pertenecen a la Hematoxilina-Eosina que identifica la estructura de las fibras, tamaño y contorno, posición de los núcleos, presencia de infiltrados inflamatorios y fibrosis y mientras que la tricrómica de Gomori modificada identifica la estructura anormal, cambios en el tejido conectivo, fibras rojas rasgadas y cuerpos nemalínicos. Por lo cual cada tinción aporta información apreciable para la caracterización de las miopatías, donde, se recomienda elegir las tinciones y pruebas suficientes que aporten a la confirmación del diagnóstico³⁹.

En las miopatías miotubulares, mediante la tinción de Hematoxilina-Eosina podemos observar los núcleos con localización central que asemejan los miotubos durante la diferenciación celular en la etapa embrionaria. En las miopatías inflamatorias, como las polimiositis, se visualiza infiltrados de células linfocitarias en el tejido conectivo; así mismo, es posible observar las fibras en regeneración y las fibras necróticas. En la distrofia muscular de Duchenne algunas fibras se ven más grandes, necróticas y con invasión macrofagocitaria; y otras se hallan granulares y con un nucléolo prominente, indicativo de regeneración, y con el endomisio fibrótico con aumento del espacio que ocupa³⁹.

La tinción tricrómica de Gomori modificada nos facilita identificar visiblemente el endomisio, el perimisio y el epimisio de color verde, por la reacción con la matriz extracelular intramuscular; los miocitos esqueléticos en color verde azul, y los núcleos y los acúmulos mitocondriales anormales en tonos rojizos o púrpura. Las fibras rojas rasgadas, correspondientes a las fibras musculares con acumulación de mitocondrias teñidas de color

rojizo y frecuentemente encontradas en las miopatías mitocondriales, se visualizan además con bordes irregulares y deshilachados. Los cuerpos nemalínicos, usualmente identificados en la miopatía congénita nemalínica, las distrofias musculares y las miopatías inflamatorias, se evidencian como filamentos contráctiles desordenados y barras de color rojizo, localizados en el subsarcolema y cercanos a los núcleos³⁹.

Serviansky et al. (2012), relata en su investigación titulada Utilidad de la tinción PAS para el diagnóstico histopatológico que la tinción de Hematoxilina-Eosina (H-E) se emplea rutinariamente en histopatología para analizar algunos tejidos del organismo, incluyendo cortes de piel. Sin embargo, esta técnica no reconoce los elementos como fibras elásticas o mastocitos, ni diferencia entre pigmento melánico y hemosiderina, por este motivo se recurrir a tinciones secundarias o especiales, entre ellas el ácido peryódico de Schiff (PAS), para observar microorganismos¹⁵.

Existen diferentes medios empleados en la detección de microorganismos incluyen; Giemsa, para *Leishmania*; Warthin Starry para *espiroquetas*; y mucicarmín, que tiñe la cápsula de *Cryptococcus sp.* Después de H-E, la tinción PAS es la más frecuentemente utilizada, pues evidencia algunos polisacáridos (particularmente, glucógeno), así como las mucoproteínas que contienen mucopolisacáridos neutros. Esta técnica es excelente para apreciar la degeneración fibrinoide, debido a que tiñe de rojo los depósitos de fibrina y nos permite apreciar elementos infecciosos como parásitos y hongos¹⁵.

Según Sulbarán A. y Bustillo J. (2016), en su investigación realizada menciona que las complicaciones orales y faciales más reportadas incluyen granulomas o nódulos, ocasionando un problema que se presenta hoy en día, ellos realizaron en su estudio cortes a 3 micras y se colorearon todas las muestras solo con la tinción de Hematoxilina-Eosina. Los pacientes no aceptaron estudios especiales por razones económicas, siendo la H-E una de las técnicas rutinarias de bajo costo, en el primer caso se le realizó biopsia incisional intraoral en fondo de surco vestibular y fue enviada a estudio histopatológico. El diagnóstico definitivo en cortes seriados bajo tinciones de rutina con H-E fue reacción a cuerpo extraño con células gigantes multinucleadas⁴⁰.

En el segundo caso es un paciente que acude a una consulta maxilofacial con lesión tumoral ubicada en fondo de surco vestibular anterosuperior izquierdo. Clínicamente bien

circunscrita de 2.0 cm de diámetro aproximadamente, consistencia fluctuante, asintomática, tapizada por mucosa oral sin ulceraciones; tiempo de evolución no definido por el paciente y bajo una impresión clínica de lipoma. El diagnóstico definitivo con tinción de H-E fue un nódulo por material de relleno sin reacción a cuerpo extraño⁴⁰.

Por último el caso 3 la paciente presenta una lesión papular, base sésil ubicada en mucosa labial inferior, asintomática y de 8 meses de evolución. Se le practicó biopsia incisional y fue enviada a estudio histopatológico con la impresión clínica de granuloma telangiectásico. El diagnóstico realizado bajo tinción de Hematoxilina-Eosina fue de nódulo de material de relleno con infiltrado inflamatorio crónico⁴⁰.

Valera S. (2010), menciona que la citología convencional en la que se realiza el extendido inmediatamente en el portaobjetos, en este método el extremo del cepillo desprendido se introduce en una solución fijadora en donde se conservan y dispersan las células, en el laboratorio la muestra es recolectada y concentrada selectivamente a través de filtros y luego transferidas al portaobjetos para su tinción y posterior interpretación. Una vez obtenida la muestra es fijada inmediatamente y en el proceso se eliminan materiales que puedan oscurecer la evaluación de las células epiteliales como sangre, moco y células inflamatorias, hay escasos artefactos en la morfología celular; sin embargo, las células son depositadas en una sola capa celular (monocapa) todo esto ayuda a la observación celular⁴¹.

La citología cervical, constituye un papel fundamental en la reducción de la mortalidad de cáncer de cuello uterino; Sin embargo, el cáncer constituye uno de los primeros problemas de salud en el mundo, siendo una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial⁴². Existen algunos factores que intervienen en la obtención de falsos negativos que en generalmente incluyen errores en la toma y procesamiento de la muestra o errores en la búsqueda e identificación de las células malignas y en su interpretación. Cerca de dos tercios de los falsos negativos resultan de error en la toma de la muestra y el tercio restante por error en la detección⁴¹.

El éxito de la citología cervical como método de tamizaje para la detección de cáncer de cuello uterino se debe a su relativa simplicidad y bajo costo del examen. La búsqueda regular de cáncer de cuello uterino mediante citología reduce tanto la mortalidad como la incidencia de cáncer invasor en la población⁴¹. La población conoce los términos PAP o Papanicolaou

y saben que es un examen para mujeres aunque no pueden definir su utilidad y desconocen sus beneficios por lo que no lo consideran importante⁴³.

Contreras R. (2015), manifiesta que el procedimiento, consiste en solicitar al paciente colocarse en posición ginecológica en una camilla y mediante la introducción de un espéculo desechable por vía vaginal con una espátula de Ayre, se adquiere la muestra de exocervix y con un cepillo (cervi-Brush) se obtiene del endocervix, la cual se extiende en una lámina portaobjeto para el examen de Papanicolaou. La misma espátula se introduce en un frasco que contiene líquido preservante (formol al 10%) se gira, en sentido contrario a las agujas del reloj para el espécimen de citología líquida y luego se desecha. A ese cepillo se da 3 vueltas en sentido contrario a las agujas del reloj en el líquido y se desprende la cabeza del cervi-Brush dejando dentro del frasco. Las láminas para la citología de Papanicolaou, son identificadas con un código secreto, desconocido por el observador (Anatomopatólogo)⁸.

Luego se procede a desparafinar el espécimen introduciendo el cestillo con las láminas en las tres cubetas con xilol durante 1 minuto cada una. Se rehidrata insertando en las cubetas con alcohol de 100°. Se introduce el espécimen en la hematoxilina (15 minutos), a continuación se elimina el exceso de tinción con agua corriente. Luego se inserta en la cubeta con eosina y posteriormente quitar el sobrante con agua. Se sumerge la muestra en las cubetas de deshidratación, durante 5 minutos en cada una, se aclara con xilol durante 5 min, se le coloca un cubreobjetos encima, permaneciendo listo para su observación al microscopio. Se concluye que la prueba es de ejecución rápida, segura, sencilla, inocua, confiable, de bajo costo y por lo tanto, se constituiría en punta de lanza, para el programa de pesquisa de cáncer de cuello uterino⁸.

Según Gómez et al. (2012), comenta que para la tinción de las muestras puede recurrirse a la Hematoxilina-Eosina y a las tinciones de Papanicolaou. La principal alternativa será aquella con la que el patólogo esté más habituado. Algunas consideraciones respecto a cada una de ellas: Tinción rápida con Hematoxilina-Eosina: es la más popular, es útil en la mayoría de las ocasiones y permite la comparación de las características de las improntas con los cortes por congelación y las muestras definitivas de los tejidos ya mencionados en la tabla 3. Esta técnica es la preferida por la mayor parte de los patólogos quirúrgicos, por su familiaridad con ella, mientras la Tinción rápida de Papanicolaou es una buena alternativa

ya que la mayoría de los patólogos la usa en su práctica citológica. Es excelente para evaluar las características nucleares, pero consume más tiempo que la H-E⁴⁴.

Arnaudo M. y Konicoff A. (2013), menciona que el para diagnóstico citológico de rutinas es recomendada la coloración de Papanicolaou. La utilización de ésta tiene como resultado una buena coloración de la cromatina nuclear, diferencial y transparencia citoplasmática (colorea los citoplasmas de diferentes tipos de células en distintos colores, reflejando la maduración y la actividad de las células). La intensidad de la coloración nuclear y la profundidad de color citoplasmática pueden adaptarse a la preferencia personal. La Hematoxilina-Eosina no está recomendada para frotis cérvico-vaginales porque se ve disminuida al resolver la diferenciación celular comparada con la coloración de Papanicolaou que pretende destacar al máximo la estructura nuclear y suavemente el citoplasma⁴⁵.

Análisis e interpretación

En la tabla 4 se expone la utilización de la tinción Papanicolaou y la tinción Giemsa como coloración rutinaria de algunos tejidos humanos.

Tabla 4 Tejidos humanos utilizando tinción Papanicolaou y tinción Giemsa como coloración rutinaria según autores

Líquido o Tejido	Patología asociada	Autor	Autor(ver Anexo 18)
Líquido cefalorraquídeo	Meningitis carcinomatosa	Kobayashi et al. (2020)	46
Bucal	Cáncer oral	Belgaumi U. y Shetty P. (2013)	47
Pulmón	Alteración núcleo-citoplasma	Teramoto et al. (2021)	48
-		37	No se registran uso de técnica alguna

Discusión

Según Kobayashi et al. (2020), Argumentan en su trabajo titulado: Los macrófagos en muestras de líquido cefalorraquídeo teñidas con Giemsa que predicen la meningitis carcinomatosa, donde se determina que el número de Leucocitos fue significativamente mayor para las muestras teñidas con Giemsa dado que las células se adhieren firmemente al portaobjetos de vidrio durante la fijación en seco en comparación con otras tinciones que se

realizaron como Papanicolaou (Fijación con alcohol) y Hematoxilina-Eosina, observaron que tenía menos células cargadas en el vidrio, entre los casos de citología de orina. Estos resultados están de acuerdo con los presentes hallazgos. Por tanto, las muestras de Giemsa son adecuadas para la evaluación de leucocitos en especímenes citológicas de LCR⁴⁶.

Belgaumi U. y Shetty P. (2013), sostiene en su investigación realizada, El cóctel Leishman Giemsa como una nueva técnica citológica potencialmente útil comparable a la tinción de Papanicolaou para el diagnóstico de cáncer oral, La tinción de Papanicolaou se usa comúnmente para teñir frotis de citología exfoliativa con tinciones de Romanowsky que se usan con moderación. El cóctel Leishman Giemsa (LG), que es una técnica de tinción relativamente nueva, no se ha utilizado en citología exfoliativa. Esta técnica sencilla, rentable y de un solo paso merece un estudio más a fondo debido a su posible aplicación en el cribado del cáncer oral, siendo la neoplasia maligna más común en todo el mundo⁴⁷.

La citología exfoliativa es una ayuda valiosa para la detección de lesiones orales malignas y potencialmente malignas. La técnica más comúnmente utilizada para teñir exfoliativas es la técnica de Papanicolaou (PAP). Tiene la ventaja de teñir células de varias capas de forma diferencial. Sin embargo, el procedimiento lleva mucho tiempo con múltiples pasos y también es costoso. Muchos laboratorios utilizan el método de tinción de May-Grünwald Giemsa (MGG) para el diagnóstico citológico de muestras además del Papanicolaou. Sin embargo, algunas de las desventajas de MGG incluyen tendencia a precipitar, tinción de fondo alta, preparación de solución fresca todos los días y sensibilidad de la técnica⁴⁷.

El cóctel LG se prepara filtrando una unidad de volumen de Giemsa y mezclando con un volumen igual de agua destilada para preparar la solución de trabajo de Giemsa. Filtrar un volumen igual de colorante de Leishman e incorporar con una cantidad similar de solución de trabajo de Giemsa (1:1) para preparar el cóctel LG. El cóctel se utiliza y se almacena. Se solicita a los pacientes que se enjuaguen la boca, Por consiguiente se realiza una citología de raspado con una espátula de cemento metálico estéril y se preparan tres frotis a partir de la (mucosa bucal) y de los pacientes del grupo de prueba. De cada grupo, un frotis se fija en alcohol con éter y se tiñe con PAP y dos portaobjetos se secan a temperatura ambiente. Un frotis se tiñe con MGG después de la fijación con metanol y el segundo frotis se colorea con tintes de cóctel LG. Utilizando procedimientos de tinción estándar para los PAP y MGG⁴⁷.

El procedimiento de tinción del cóctel LG fue el siguiente: los frotis secados al aire se sumergen con LG y se dejan durante 1 min. Se añade un volumen igual de tampón (pH -6,8) y se deja durante 5 min con un suave soplado. Los portaobjetos se lavan con agua corriente, se secan, se aclaran y se montan. Los especímenes se evaluaron para determinar las características de tinción como el detalle nuclear y citoplasmático⁴⁷

Finalmente Belgaumi U. y Shetty P. (2013) observaron que la tinción de cóctel LG fue mejor que MGG para la tinción citoplásmica. Sin embargo, comparando las tinciones de PAP y MGG, MGG fue una mejor tinción citoplásmica y PAP una excelente tinción nuclear, y sugirieron el uso de ambas tinciones para aumentar la eficacia. Aunque la transparencia nuclear de PAP estuvo ausente en el cóctel LG, la granularidad y vesicularidad de la cromatina se aprecian mejor en frotis teñidos con cóctel LG secados al aire. Además, el agrandamiento y la variación en el tamaño nuclear se exageran en los frotis secados al aire, lo que es útil en el diagnóstico citológico. Si la tinción de fondo es demasiado intensa, también puede impedir la visualización adecuada de los grupos de células. Por otro lado, los frotis teñidos con MGG mostraron una metacromasia más intensa en comparación con el cóctel LG, a veces, detalles celulares oscurecidos⁴⁷

Teramoto et al. (2021), menciona como resultado de convertir imágenes teñidas con Giemsa en imágenes teñidas con Papanicolaou, los patrones de glóbulos rojos de fondo presentes en las imágenes con la primera técnica desaparecieron y se obtuvieron patrones celulares que reproducían la forma, tinción de los núcleos celulares y el citoplasma característicos de Papanicolaou. Con respecto a los resultados de la traducción inversa, los núcleos se hicieron más grandes y aparecieron glóbulos rojos que no eran evidentes en las imágenes con Papanicolaou. Después de la evaluación visual, las imágenes reales mostraron mejores resultados que las imágenes convertidas⁴⁸.

En cuanto a las imágenes con Papanicolaou traducidas a imágenes con Giemsa, se obtuvo representaciones fieles de núcleos celulares azules y citoplasma verde claro. Cuando las imágenes se convirtieron de Papanicolaou a Giemsa, los núcleos y el citoplasma se convirtieron en púrpura y aparecieron muchos patrones de glóbulos rojos, la tinción de Giemsa tiende a hacer que los núcleos de las células sean más delgados y más dispersos porque las células se secan para preparar la muestra⁴⁸.

CONCLUSIONES

En el presente estudio se pudo evidenciar que en la actualidad se ha implementado sistemas automatizados para la elaboración del procesamiento en tejido humano en el cual permite reducir considerablemente el tiempo de análisis y la posibilidad de errores, dejando atrás el procesamiento de forma manual con el fin de obtener resultados con mayor rapidez

La tinción de Hematoxilina-Eosina se utiliza rutinariamente en los laboratorios de cito histopatología, ya que proporciona un estudio de diversos tipos de tejidos y cambios morfológicos de las células. Esta información es a menudo suficiente para permitir un diagnóstico de enfermedad basado en la organización de las células y también muestra cualquier anormalidad o indicadores particulares en las células reales. Por lo tanto es una tinción que resulta fácil de llevar a cabo y requiere poca instrumentación, hoy en día la mayoría de centros de diagnóstico utilizan sistemas totalmente automatizados y la tinción manual es ahora poco frecuente.

Se concluye que la coloración con Giemsa es la favorita para la identificación de biopsias gástricas, en base a su buena sensibilidad, excelente especificidad y además que no presenta dificultades en su preparación, comparada con la Hematoxilina-Eosina que poseen aceptable sensibilidad del 90% y 98% respectivamente, la tinción H-E es una tinción económica para identificar pero con un rendimiento particularmente inferior que la tinción Giemsa pero es una prueba aceptable, por lo cual la mayoría de los patólogos recomiendan realizar siempre una tinción especial como la tinción Warthin Starry.

La Tinción de Papanicolaou es recomendada para el diagnóstico citológico, es excelente para evaluar las características de la cromatina nuclear, diferencial y transparencia citoplasmática, reflejando la maduración y la actividad de las células, siendo una tinción que consume más tiempo que la H-E. La coloración antes mencionada no está recomendada para frotis cérvico-vaginales porque se ve disminuida al resolver la diferenciación celular comparada con la coloración de Papanicolaou que pretende destacar al máximo la estructura nuclear y citoplasmática, siendo un éxito de la citología cervical como método de tamizaje para la detección de cáncer de cuello uterino.

La tinción de Hematoxilina-Eosina es comúnmente utilizada en laboratorios de cito histopatología como instrumento de diagnóstico para distintos tipos de tejidos. Sin embargo, este medio no revela la presencia de ciertos elementos, como fibras elásticas o mastocitos, ni permite diferenciar entre el pigmento melánico y la hemosiderina, por lo que es necesario recurrir a tinciones especiales. Después de H-E, la tinción PAS es la más comúnmente utilizada, pues evidencia algunos polisacáridos (particularmente, glucógeno), así como las mucoproteínas que contienen mucopolisacáridos neutros.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Calá G, Cuevas R, Cobián J, Despaigne R, Cisneros E. Glosario de Morfofisiología Humana. 2014;18(3):441–8. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/san/v18n3/san19314.pdf>
2. Verdín S, Moreno L, Rojo N, García A, Omaña M, Meneses A, et al. Histología e Inmunohistoquímica [Internet]. FES Iztaca. Ávila MJJV, editor. Vol. 89, Neuroendocrinology. 2015. 44 p. Disponible en: <http://antares.iztacala.unam.mx/papime/wp-content/uploads/2014/10/Histologia1.pdf?fbclid=IwAR3FDKLLzr4XZsGki4ISbGwkwHTN6zbXRy8GJFktXf-qcZFWrk9bwG3EE1A>
3. López P, Casasbuenas J. La Biopsia y La Citología, Pilares del Diagnóstico Médico (Ii Parte) Biopsy and Cytology, the Pillars of Medical Diagnosis (Part I). RevMedicaSanitas [Internet]. 2015;18(2):82–9. Disponible en: https://www.unisanitas.edu.co/Revista/55/LA_BIOPSIA_Y_LA_CITOLOGIA.pdf
4. Speroni F. Diccionario de anatomía e histología [Internet]. 1a ed. Plata UN de LP– E de la U de La, editor. Diccionario de anatomía e histología. La Plata: Edulp integra la Red de Editoriales Universitarias Nacionales (REUN); 2016. Disponible en: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/57801/Documento_completo___.pdf-PDFA.pdf?sequence=1
5. Welsch U. Terminología básica [Internet]. 3a ed. Revista medica Panamericana; 2014. 593 p. Disponible en: <http://www.herrerobooks.com/pdf/PAN/9786077743910.pdf>
6. Hilario E. Prácticas de Histología Humana [Internet]. 2011. 112 p. Disponible en: <https://web-argitalpena.adm.ehu.es/pdf/UWLGME7122.pdf>
7. Parquet R. George Nicholas Papanicolaou. Acta Gastroenterol Latinoam [Internet]. 2015;45(1):8. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1993/199336842002.pdf>
8. Contreras R. Papanicolaou y Citología Líquida en Diagnóstico de Cáncer de Cérvix. Hospital Civil De Maracay. Comunidade e Saúde [Internet]. 2012;13(1):12–22. Disponible en: <http://ve.scielo.org/pdf/cs/v13n1/art03.pdf>
9. Megías M, Molist P, Pombal MA. Tecnicas histologicas Ampliaciones. Atlas Histol

- Veg y Anim [Internet]. 2018; Disponible en: <https://mmegias.webs.uvigo.es/descargas/tecnicas-ampliaciones.pdf>
10. Megías M, Molist P, Pombal M. Técnicas histológicas TINCION. 2018;29. Disponible en: <https://mmegias.webs.uvigo.es/descargas/tecnicas-tincion.pdf>
 11. Santa Cruz Ó. Validación del extracto del exocarpo de *Renealmia alpinia* (kumpia) como colorante nuclear tisular [Internet]. universidad weiner; 2014. Disponible en: http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/96/061_004_EAP_TECNOLOGIA_SANTA_CRUZ%2Crev.LB.pdf?sequence=1&isAllowed=y
 12. Montalvo C. Técnica histológica. 2015;1–12. Disponible en: http://www.facmed.unam.mx/deptos/biocetis/PDF/Portal_de_Recursos_en_Linea/Apuntes/3_tecnica_histologica.pdf
 13. Suvarna K, Layton C, Bancroft J. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. 7a ed. Data BLC in P, editor. Vol. 6, Angewandte Chemie International Edition. China: Elsevier; 2013. 603 p.
 14. Gallego A. Técnica histológica. Treballs la Soc Catalana Biol [Internet]. 2016;0(3):6. Disponible en: <http://dea.unsj.edu.ar/biologia1/th.pdf?fbclid=IwAR1-SZE7v0MoV9eEWnlvvO9tD9qBDcmNoZwQM6MkXMFhHCXit-6kCLsP8nc>
 15. Ocampo J, Silva J. Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica. 2013;11(1):78. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2013/dcm131c.pdf>
 16. Mestanza R. Frecuencia de las tinciones histoquímicas de PAS, Grocott y Ziehl-Neelsen utilizadas para la identificación de microorganismos, realizadas en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital de Especialidades Eugenio Espejo en el año 2015". Univ Cent Del Ecuador Fac [Internet]. 2016;2–3. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/8079/1/T-UCE-0006-005.pdf>
 17. Santos S. Tinción Hematoxilina-Eosina [Internet]. Bio-orgánica, Departamento de Química Orgánica. UNIVERSIDAD NACIONAL DE EDUCACIÓN A DISTANCIA; 2017. Disponible en: http://espacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ-Ssantos/Santos_Vidal_Sara_TFM.pdf

18. Megía M, Molist P, Pombal M. Técnicas histológicas RECETAS. 2018; Disponible en: <https://mmegias.webs.uvigo.es/descargas/tecnicas-protocolos-s.pdf>
19. Ávila G. Atlas de Histología orientado a la nutrición [Internet]. 1 era. Córdoba, editor. 2019. 38 p. Disponible en: [https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/15154/ATLAS DE HISTOLOGÍA APLICADA A LA NUTRICIÓN CC.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/15154/ATLAS_DE_HISTOLOGÍA_APLICADA_A_LA_NUTRICIÓN_CC.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
20. Peñafiel I. Metodología de integración virtual “histo-tec-blog”, para el aprendizaje de técnicas histológicas, en estudiantes del tercer semestre de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico de la Universidad Nacional de Chimborazo, en el periodo abril-oct. 2017;149. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/677%0Ahttp://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/1381/1/UNACH-EC-AGR-2016-0002.pdf>
21. Merck M. Rápido y seguro. Todo lo que necesita para histología. 2012; Disponible en: https://tecnigen.cl/documento_tcl.php?documento=729&fbclid=IwAR126oC90MUODtdZPvO-u1uuAThkIo7h32ryo3Iy9mKNwG6NwxlKg5P8iCA
22. Días X, Magzul W, Pérez W. “ Colección de Referencia en Hematología ” [Internet]. Seminario de Investigacion. Universidad de San Carlos de Guatemala; 2013. Disponible en: <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QB1069.pdf>
23. Villa M, Escobar S, Tamayo L, Valencia M, Vasquez M. Validación de la prueba de Papanicolaou en el diagnóstico de vaginosis bacteriana. Antioquia, Colombia. Iatreia [Internet]. 2012;15(1):50–5. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-07932002000100006
24. PanReac AppliChem. Tinción de papanicolau. 2019;3. Disponible en: https://www.itwreagents.com/download_file/ce_ivd_instructions/CEIVD14/es/CEIVD14_es.pdf
25. Sataloff R, Johns M, Kost K. Coloración de Papanicolaou. 2017;1–4. Disponible en: <https://es.renylab.ind.br/wp-content/uploads/2018/05/Kit-Coloración-de-Papanicolaou.pdf>

26. León M. Manual de Procedimientos y Diagnostico de “ Citología Cérvico vaginal ” para la detección Precoz de Cáncer de Cuello uterino en el servicio de Anatomía Patológica y citología de la Caja Petrolera de Salud Departamental La Paz. 2013;196. Disponible en: <https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/22864/TD-1836.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
27. Dey P. Basic and advanced laboratory techniques in histopathology and cytology [Internet]. Basic and Advanced Laboratory Techniques in Histopathology and Cytology. Chandigarh, India: Springer Nature Singapore; 2018. 1–275 p. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/978-981-10-8252-8>
28. Toro M. Comparación de las tinciones Hematoxilina-Eosina y Giemsa para la identificación de *Helicobacter pylori* en muestras de biopsia gástrica de pacientes del Hospital IESS Riobamba entre octubre y diciembre del 2009 [Internet]. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Pontificia Universidad Católica del Ecuador; 2010. Disponible en: <http://repositorio.puce.edu.ec:80/xmlui/handle/22000/5037>
29. Escudero N. Aplicación De La Tinción Giemsa Más Hematoxilina Eosina Para Identificar *Helicobacter Pylori* En Muestras De Biopsias Gástricas De Laboratorio De Patología Del Iess De Ambato Provincia De Tungurahua. Univ Técnica Ambato Fac [Internet]. 2015;111. Disponible en: [https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/8706/1/Escudero Salinas%20Nela Beatriz.pdf](https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/8706/1/Escudero%20Nela%20Beatriz.pdf)
30. Ahumada E, Rodríguez M, Hidalgo E, Ahumada J, Castro J. Identificación de *Helicobacter pylori* por medio de la coloración especial de Warthin-Starry en biopsias de pacientes con gastritis crónica folicular, previamente negativas en la tinción de hematoxilina-eosina. Rev Colomb Gastroenterol [Internet]. 2020;35(1):1–7. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcg/v35n1/0120-9957-rcg-35-01-00001.pdf>
31. Vásconez D, Lozada J. " Método de Coloración Giemsa y Warthin Starry Para identificar *Helicobacter Pylori* en Biopsias Gástricas ". 2017;1(1). Disponible en: <https://revistas.uta.edu.ec/erevista/index.php/ccli/article/view/113/110>
32. Carreño Y. Características operativas de las pruebas de antígenos fecales (Elisa) y test de aliento de la urea frente a la tinción de Hematoxilina y Giemsa en histología para

- el diagnóstico de *Helicobacter pylori*. Revisión Sistemática de la Literatura [Internet]. Vol. 27. Pontificia Universidad Javeriana; 2010. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8340/tesis310.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
33. Amores J, Arredondo A, Martínez B, Estrada Y, Pereira L, Anacela P. Correlación histológica-microbiológica en el diagnóstico de *Helicobacter Pylori*. Rev Latinoam Patol Clínica y Med Lab [Internet]. 2010;57(3):135–42. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2010/pt103e.pdf>
 34. Omiste I. Métodos diagnósticos de la infección de *Helicobacter Pylori* en Huesca [Internet]. Universidad de Zaragoza; 2011. Disponible en: <http://zaguan.unizar.es/record/7017/files/TESIS-2012-016.pdf>
 35. Brüel A, Christensen E, Tranum J, Qvortrup K, Geneser F. Geneser Histología [Internet]. 4ta ed. Editorial Medica Panamericana, editor. Vol. 4. 2012. 377 p. Disponible en: <http://marefateadyan.nashriyat.ir/node/150>
 36. Ross M, Pawlina W. Ross Histología Texto Y Atlas Correlación con la Biología Molecular y Celular Wojciech Pawlina [Internet]. 7 ma. Kluwer W, editor. Barcelona; 2015. 535 p. Disponible en: https://drive.google.com/drive/folders/1yObHkLg77bpcPGOJW81H90OQLYTOQ3_x
 37. Pawlina W, Ross M. Ross Histología Texto Y Atlas Correlación con la Biología Molecular y Celular Wojciech Pawlina [Internet]. 8 va. Kluwer W, editor. Barcelona; 2020. 265 p. Disponible en: https://drive.google.com/drive/folders/1yObHkLg77bpcPGOJW81H90OQLYTOQ3_x
 38. Bruguera M. Guía para la interpretación de la biopsia hepática o el examen metódico de la biopsia hepática [Internet]. Sociedad Chilena de Gastroenterología, Hígado AL para el estudio de, editors. Chile; 2016. 359 p. Disponible en: http://www.sociedadgastro.cl/gastroweb/documentos/2017/GUIA_BIOPSIA_HEPATICA_DR_BRUGUERA_2016.pdf
 39. Rosero D, Salazar L, Tovar M. Histoquímica enzimática en el diagnóstico de

- miopatías: revisión sistemática. 2014;14:467–88. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2014/myl149-10f.pdf>
40. Sulbarán A, Bustillo J. Datos histopatológicos para la identificación de una reacción por material de relleno en patología bucal. Revisión bibliográfica y presentación de tres casos. Univ Odontol [Internet]. 2016;35(74):1–27. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6055842>
 41. Valera S. Citología cervical. Ginecol Obstet Mex [Internet]. 2010;73:6. Disponible en: <http://www.bvs.hn/RMH/pdf/2005/pdf/Vol73-3-2005-7.pdf>
 42. Rodríguez V, Ortiz G, Sanjosé S de. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA SOBRE LA PREVENCIÓN DEL CÁNCER EN PERSONAS INMIGRANTES RESIDENTES EN ESPAÑA. 2014;9. Disponible en: <https://scielo.isciii.es/pdf/resp/v88n6/06revision4.pdf>
 43. Belalcazar Y, De la Cruz E. Barreras que enfrentan las mujeres de 40 a 65 años que acuden a la consulta de Ginecología de la Unidad Metropolitana de Salud Sur para la Realización de la Citología Cervicouterina y la comprensión del Cáncer de Cérvix comparadas con las mujeres de 21 a. 2014;152. Disponible en: <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/8571/merged%2834%29.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
 44. Gómez G, Barboza O, Segura J, Ancer I, Miranda I, Flores J, et al. Impronta citológica : herramienta en el diagnóstico transoperatorio. Rev Med Inst Mex Seguro Soc [Internet]. 2012;50(6):599–608. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2012/im126e.pdf>
 45. Arnaudo M, Konicoff A. Guía de procedimiento para citología exfoliativa. 2013;6–19. Disponible en: <http://www.revistabioanalisis.com/images/flippingbook/Rev26n/nota2.pdf>
 46. Kobayashi S, Saio M, Fujimori M, Hirato J, Oyama T, Fukuda T. Macrophages in Giemsa-stained cerebrospinal fluid specimens predict carcinomatous meningitis. Oncol Lett [Internet]. 2020;20(6):1–11. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33123263/>
 47. Belgaumi U, Shetty P. Leishman Giemsa cocktail as a new, potentially useful

- cytological technique comparable to Papanicolaou staining for oral cancer diagnosis. *J Cytol* [Internet]. 2013;30(1):18–22. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23661935/>
48. Teramoto A, Yamada A, Tsukamoto T, Kiriya Y, Sakurai E, Shiogama K, et al. Mutual stain conversion between Giemsa and Papanicolaou in cytological images using cycle generative adversarial network. *Heliyon* [Internet]. 2021;7(2):e06331. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06331>
 49. Centro Nacional de Equidad de Género y Salud Reproductiva. Secretaría de Salud. Tinción e interpretación de la Muestra de Citología Cervical. Man Proced [Internet]. 2010;1:60. Disponible en: <https://citopatologia.org/wp-content/uploads/2019/03/tincion.pdf>
 50. Tinse L. Manual procedimientos anatomia patologica. 2011;1(2):109. Disponible en: http://200.72.129.100/transparencia/transparencia_activa/documentos/apato/Manual es Hasta Agosto 2012/Manual_procdimientos_anatomia_patologica_2011.pdf
 51. Carson F, Hladik C. *Histotechnology A Self-Instructional Text*. 3a ed. Fanucci A, Tanck EN, Moon TW, Weikersheimer J, editors. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2010. 417 p.
 52. Chan J. The wonderful colors of the hematoxylin-eosin stain in diagnostic surgical pathology. *Int J Surg Pathol* [Internet]. 2014;22(1):12–32. Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/1066896913517939>
 53. Gitirana L. *Colecao Conhecendo: Imagens histológicas dos tecidos*. 1a ed. Rio de Janeiro; 2021. 94 p.

Anexo 2: Diagnóstico microscópico

Diagnóstico microscópico

Elena tiene ya el tejido en los bloques de parafina y se cortarán en láminas de 4 micras, casi transparentes, que será lo que se estudie al microscopio.



Las células, por sí mismas, no poseen coloración y para poder observar la morfología deben teñirse.



Las diferentes tinciones permiten a Elena examinar la morfología del tejido e identificar células específicas. Muchas veces la tinción está automatizada. Permite que el laboratorio pueda teñir la gran cantidad de muestras que tiene al día, de forma estandarizada asegurando la **calidad del proceso**.



1

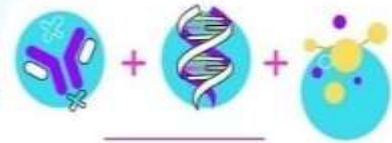
2

3

4



Las biopsias se tiñen con **Hematoxilina-Eosina**, que muestra los elementos del tejido en lila y rosa. Las citologías, sin embargo, usan la tinción Giemsa o Papanicolaou.

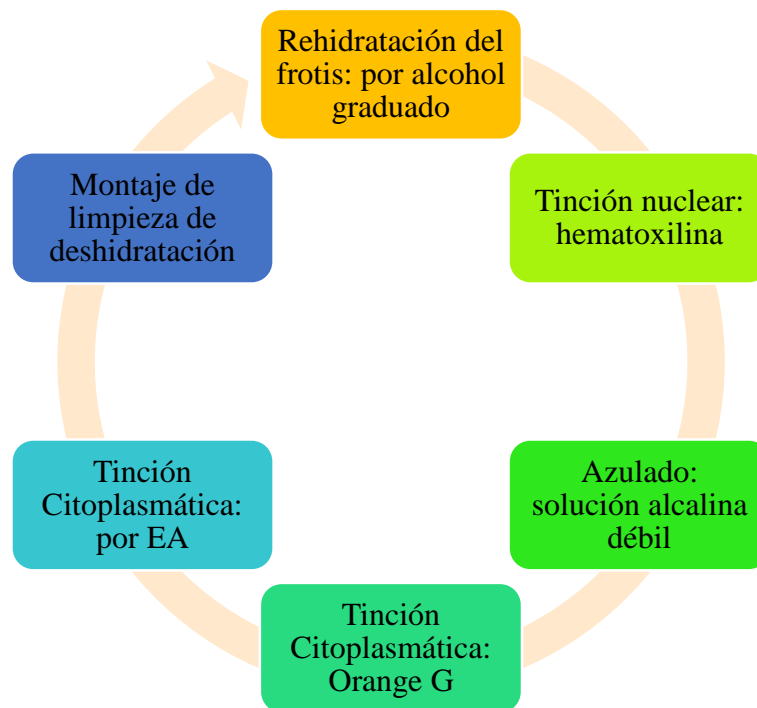


A veces también son necesarios **estudios adicionales de biomarcadores** mediante inmunohistoquímica, estudios citogenéticos o moleculares.



Los biomarcadores ayudan a ampliar la información del diagnóstico, del pronóstico y a definir si el paciente necesitará un **tratamiento más específico**.

Anexo 3: Principios Básicos de la tinción de Papanicolaou en diagrama.



Anexo 4: Comparación de la tinción de Papanicolaou y la tinción de May Grunwald Giemsa

Características	Tinción PAP	Tinción MCG
Detalle nuclear	Excelente y muy bueno tinción para tinción de cromatina	No se puede estudiar el patrón de cromatina.
Demostración de queratina	Orange G tiñe la queratina como color naranja brillante	No se puede demostrar
Metacromasia	No es una mancha metacromática	Tinción metacromática
Transparencia	Tinción transparente	No es una mancha transparente
Mucina de fondo o necrosis	No buena	Bueno para la demostración de extracelular sustancia

Anexo 5: Preparación de diferentes soluciones de formalina

Formalina tamponada neutra al 10%:	Preparación de solución salina formal al 10%:	Fijador formal de etanol:
Formaldehído al 40%: 100,0 ml Agua destilada: 900,0 ml Dihidrogenofosfato de sodio: 4,0 g Fosfato de hidrógeno disódico: 6,5 g	Formaldehído al 40%: 100,0 ml Cloruro de sodio: 9 g Agua destilada: 900,0 ml	Alcohol etílico al noventa y cinco por ciento: 20 ml Formaldehído, 40%: 10 ml

Anexo 6: Comparación de diferentes fijadores

Fijador	Ingredientes	Ventajas	Desventajas	Aplicaciones
Búfer formalina (10%)	-formaldehído -Agua -sodio dihidrógeno -fosfato -Disodio -Hidrógeno fosfato	- Alta penetración Velocidad - Morfología celular bien conservado - Barato - estable	- Fijación lenta - No conserva el ácido mucopolisacáridos - Gránulos de color marrón oscuro en tejido vascular	Efectivo para rutina laboratorio tinción
Glutaraldehído	-Glutaraldehído Tampón de fosfato	- Mejor fijación de ultraestructura - Menos celda contracción - Proteína preservación mejor - Menos irritante	- Poca penetración en tejido - Menos estable - Sin fijación de lípidos - costoso	- Mejor para electrón microscopía
Osmio tetróxido	-2-4% de osmio tetróxido en tampón solución	- Buen fijador para lípido - Bueno para Golgi cuerpos y mitocondrias	No arregla el proteínas y carbohidratos - Causa aglutinación de ADN - Tóxico y volatiliza a temperatura ambiente - costoso	- Bueno para electrón microscopía
Alcohol etílico	Alcohol absoluto - Agua	- Rápida penetración	- Inflamable - Necesita licencia	Bueno para frotis de citología
Fijador de Bouin	- Ácido pícrico - formaldehído	- Rápido	- Produce mancha amarilla	- Buen fijador para conectivo

	- Ácido acético glacial	tasa de penetración - Muy bueno para tinción tricrómica	al tejido	tejido y glucógeno
El fluido de Zenker	Cloruro de mercurio - Ácido acético glacial - potasio dicromato - Agua destilada	- Actuación rápida - Incluso penetración	- Pigmentos de dicromato y mercurio - El mercurio es venenoso - RBC está mal Preservado	- Órgano con muy alto vascularidad tal como el bazo

Anexo 7: Fijador de elección según tejido

Tejido	Fijador	tiempo
Muestra del día a día (rutina)	10% tamponado formalina	Tejido pequeño: 6 h Tejido grande: 12-24 h
Ganglio linfático	Solución B5	18 H
Tracto gastrointestinal	10% tamponado formalina	6 h
Testículo	10% tamponado formalina O de Bouin Líquido	6 h
Médula ósea	El fluido de Bouin	3h
Bazo	El fluido de Zenker	6h
Ojo	10% tamponado formalina	48 h

Anexo 8: Técnica Warthin Starry

Sección fijada con formalina

Reactivos

Solución Buffer	
Acetato de sodio	1.64 g
Ácido Acético	2.5 ml
Agua destilada	200 ml
Solución de plata	
Nitrato de plata	0.5 g
Solución Buffer	50 ml
Solución Desarrolladora	
Solución A	
Hidroquinona	300 mg
Solución Buffer	10 ml (observar preparación arriba)
Las soluciones se almacenan a 37°C	
Solución B	
Nitrato de plata (2%)	3 ml

Mezclar 10 ml de solución A y 3 ml de solución B (precalentar a 60 ° C) justo antes de usar²⁷.

Pasos

- Desparafinar y llevar el corte al agua.
- Lavar en solución tampón.
- Tinción en solución de nitrato de plata al 1% a 60 ° C: 1 h.
- Mantenga la sección en un revelador recién preparado solución a 60 ° C: 3-4 min.
- Lavar con agua a 60 ° C.
- Lavar en solución tampón.
- Deshidratar.
- Claro.
- Monte.

Resultado

- Espiroquetas: Color negro.
- Fondo:
- Marrón a amarillo

Anexo 9: Recomendaciones generales de control de calidad

El área de tinción debe estar físicamente separada de otros espacios, con una excelente ventilación hacia el exterior, ya que debido a los contaminantes químicos, es una área de alto riesgo⁴⁹.

Deben estar señalizadas las medidas a tomar en caso de siniestro, debido a que muchas de las sustancias que aquí se manejan son inflamables, por lo que es importante contar con regadera antiincendios y extintores, y de igual manera, también debe contar con campana de extracción de gases tanto para la tinción, como para el montaje.

En cuanto a los insumos y material se recomienda sean de buena calidad, como: las cajas de vidrio, los cubreobjetos y porta objetos, etc.

Se podrá obtener una tinción de calidad si:

- Todas las laminillas aceptadas son procesadas en el tiempo establecido y se mantiene su integridad e identificación durante el proceso.

- Todas las laminillas se tiñen obteniendo una buena definición del detalle nuclear y una transparencia del citoplasma para poder observar la diferenciación celular.
- Todas las laminillas están montadas adecuadamente, lo que significa que el frotis está protegido de sequedad, del encogimiento y de desteñirse por la oxidación. Además, proporciona una imagen transparente en el microscopio.
- Las charolas para los citotecnólogos están preparadas correctamente, lo que significa que contienen el número de laminillas que corresponde, están libres entre sí (no pegadas) y colocadas en orden correlativo con el número de registro citológico.

Respecto a los colorantes se recomienda se compren listos para su uso:

- Colorante de Hematoxilina
- Colorante Orange G6
- Colorante EA 50

Se deberán tener los siguientes cuidados:

- Verificar que las soluciones estén rotuladas indicando: fecha de compra, nombre de la solución, titulación, concentración, advertencias para su manejo y fecha de vencimiento.
- Mantener los colorantes en envases oscuros, bien tapados porque son sensibles a la luz y se oxidan a temperatura ambiente.
- El tren de tinción debe cambiarse cada 2000 laminillas teñidas o cada 6 u 8 semanas.
- Se deberá realizar el mantenimiento general y específico de los colorantes, de la siguiente manera:

Mantenimiento general.

- Filtrar los colorantes cada ocho días; rutinariamente y cuando se requiera se hará diariamente, ésto deberá hacerse antes de usarlos, para remover cualquier material celular que se haya desprendido de las laminillas.
- Se podrá usar un papel filtro de mediana velocidad.
- Limpiar las cajas de todo residuo de colorante.
- Controlar diariamente el nivel de las soluciones del tren de tinción para asegurar que las laminillas procesadas se cubran totalmente.
- Rellenar las cubetas con el colorante correspondiente.

- El mantenimiento específico se refiere al cuidado de los tres colorantes de manera particular, y se detalla posteriormente en cada uno de los pasos correspondientes a su uso en el proceso de tinción.

Anexo 10: Coloración de tejidos humanos usando la tinción Papanicolaou

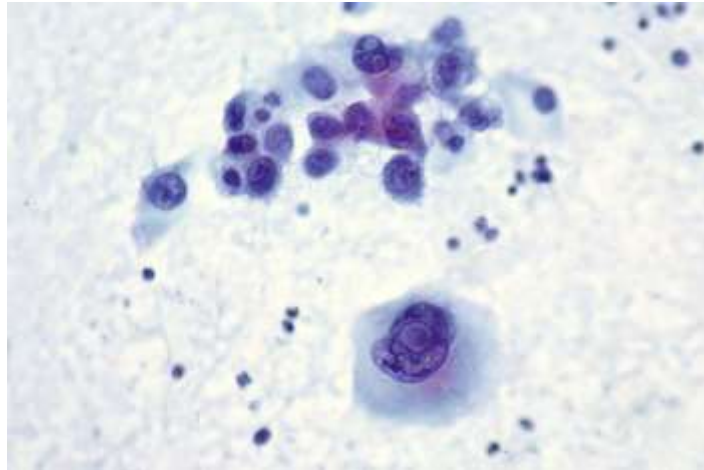


Ilustración 1: Melanoma maligno, biopsia por aspiración con aguja fina del hígado, frotis directo Tinción de Papanicolaou.

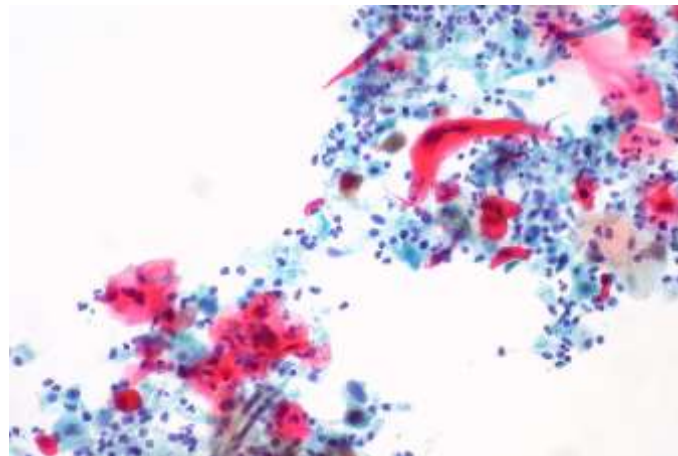


Ilustración 2: Carcinoma de células escamosas, lavado bronquial.

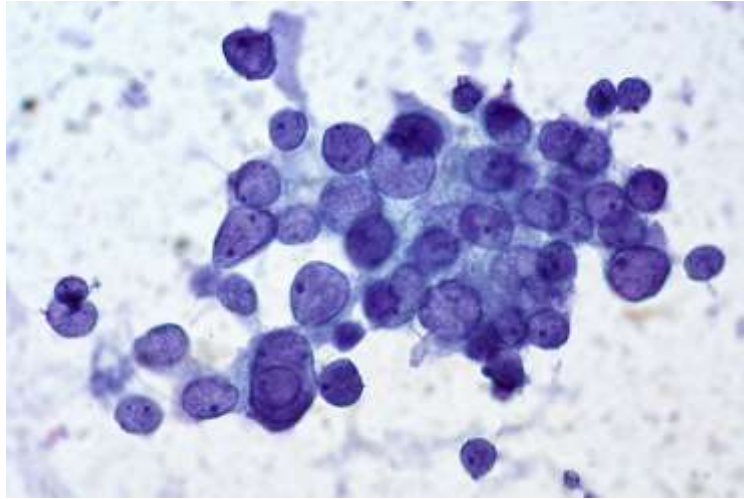


Ilustración 3: Cáncer papilar de tiroides, biopsia por aspiración con aguja fina.

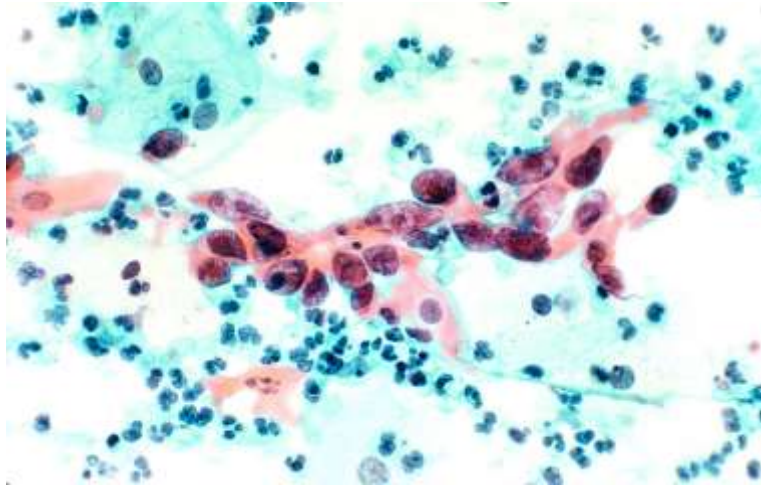


Ilustración 4: Carcinoma de células escamosas en el cuello uterino.

Anexo 11: Coloración Van Gieson Para Fibras Colagenos

- Desparafinar e hidratar hasta agua destilada.
- Hematoxilina Verhoeff por 10 min.
- Lavar agua corriente.
- Picro-ponceau por 2 minutos.
- Lavar en alcohol absoluto.
- Aclarar y montar.
- Hematoxilina Verhoeff:
- Hematoxilina C.I 75290 (3% alcohol absoluto) 3 partes
- FeCl3 2.5% 2 partes

Lugol 1 parte

Picro-Ponceau:

- Solución acuosa 2% de Ponceau S 5 ml
- Solución acuosa saturada de ácido pícrico 95 ml
- Ácido acético glacial 2% 1 ml

Resultados: Fibras colágenas de color rojo y núcleos de color negro ⁵⁰

Anexo 12: Colores y detalles celulares en corte histológico teñido con Hematoxilina-Eosina (H-E).

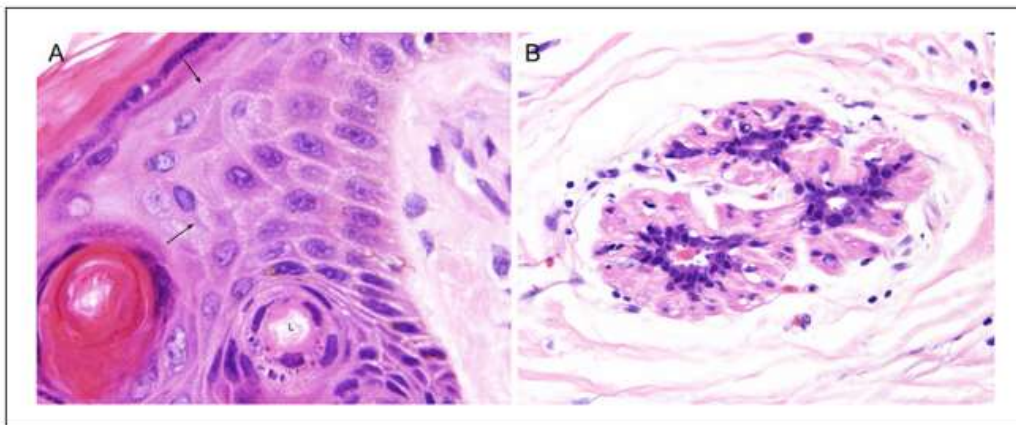


Ilustración 5: Colores y detalles celulares en corte histológico teñido con Hematoxilina-Eosina (H&E). **(A)** En esta muestra de piel, intercelular Se ven puentes entre las células escamosas individuales. Las fibrillas citoplasmáticas (citoqueratina) también son evidentes en algunas células (flechas). Nótese las diferentes intensidades y tonalidades de tinción rosada en las diferentes estructuras, de profundo a claro: queratina, cutícula luminal de conducto sudorípara (L), citoplasma de las células epidérmicas y colágeno. **(B)** Un lóbulo mamario que muestra la metaplasia mioide del mioepitelio. La El citoplasma del mioepitelio metaplásico muestra una tinción de color rosa intenso como las células musculares, más oscuro que las fibras colágeno circundante⁵².

Anexo 13: Biopsia de médula ósea que muestra eritropoyesis activa

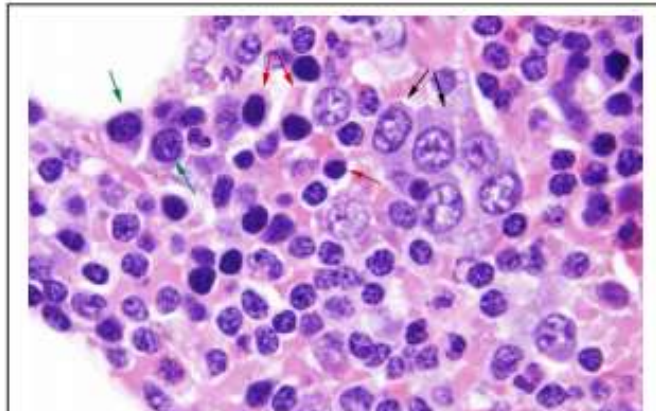


Ilustración 6: Los pronormoblastos y los normoblastos tempranos tienen citoplasma (flechas negras). Los normoblastos intermedios tienen citoplasma púrpura (flechas verdes). Los normoblastos tardíos tienen citoplasma eosinofílicos (flechas rojas), acercándose al color de las células rojas de la sangre⁵².

Anexo 14: Dibujo esquemático para mostrar la correlación de ultraestructura con tinción de hematoxilina-eosina (H-E) para fibroblasto, célula de músculo liso y miofibroblasto.

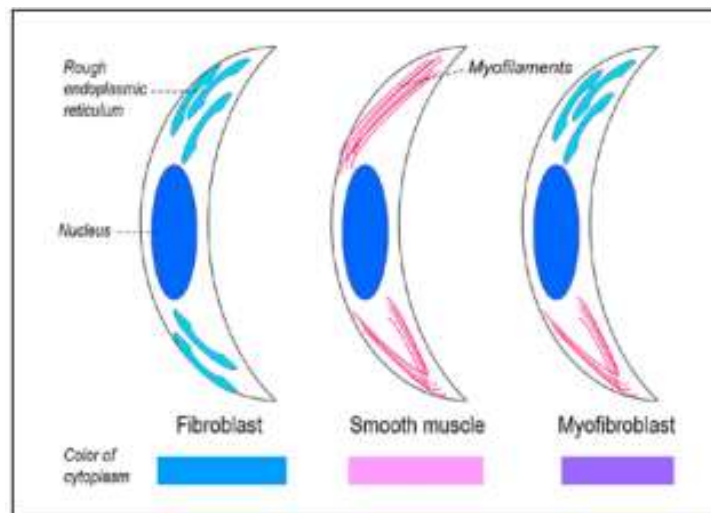


Ilustración 7: Fibroblasto es rico en retículo endoplásmico rugoso, y el citoplasma se tiñe de azul. La célula del músculo liso es rica en miofilamentos y la tinción del citoplasma de color rosa intenso. El miofibroblasto es rico en ásperos retículo endoplásmico y miofilamentos, y por lo tanto se tiñe de púrpura⁵².

Anexo 15: Métodos Giemsa

Solución Diff-Quik I (Baxter Healthcare Corporation)

1 g / L de colorante xanteno, contenido de colorante 100% puro, tampón y acida de sodio (0,01%) como conservante. Mantener en un frasco Coplin bien tapado en la habitación a temperatura ambiente y deséchelo si se observa algún crecimiento microbiano. Filtrar de vez en cuando⁵¹.

Solución Diff-Quik II (Baxter Healthcare Corporation)

Mezcla de colorante de Tiacina 1,25 g / L, contenido de colorante 100% puro (0,625 g / L azul A, y 0,625 g / L de azul de metileno) y tampón. Mantener en una tapa hermética frasco de Coplin a temperatura ambiente y deséchelo antes de la fecha de vencimiento, ver en la etiqueta de la caja. Filtrar ocasionalmente⁵¹.

Agua de ácido acético

1. Ácido acético glacial 1 mL
2. Agua destilada 400 ml
3. Procedimiento
4. Desparafinar las secciones en xileno e hidratar con 2 cambios de alcohol absoluto, 2 cambios de alcohol al 95% y 1 cambio de alcohol al 70%, por agua destilada. Llevar toboganes 1 a la vez durante el resto del procedimiento.
5. Sumerja el portaobjetos en la Solución I Diff-Quik, 25 inmersiones.
6. Sumerja el portaobjetos en Diff-Quik Solution II, 25 inmersiones
7. Enjuague rápidamente con agua destilada.
8. Diferenciar en 2 cambios de agua acética, 5 inmersiones en cada uno.
9. Enjuague rápidamente con agua destilada. Verifique microscópicamente. H pylori y los núcleos deben ser de color azul oscuro, el citoplasma debe ser rosa. Si se desea un mayor realce de la mancha, los pasos 2 a 6 pueden repetirse.
10. Deshidrate en 1 cambio de alcohol al 95%, 15 baños rápidos.
11. Continúe la deshidratación con 1 cambio de alcohol absoluto, 15 inmersiones rápidas.
12. Limpiar con xileno y montar con resina sintética⁵¹.

Resultados:

H pylori	Azul oscuro
Otras bacterias	Azul
Núcleos	Azul oscuro
Citoplasmas	Rosa

Notas técnicas

1. La solución Diff-Quik I es una solución tamponada de eosina Y (una colorante aniónico, que tiñe de rosa los elementos citoplásmicos).
2. Diff-Quik Solution II es una mezcla de tintes catiónicos de azul A y azul de metileno, que tiñe los núcleos y las bacterias de azul.
3. No prolongue el tiempo en el último enjuague con agua destilada o en el deshidratar alcoholes, o conducirá a una decoloración excesiva.
4. *H. pylori* se asocia con gastritis y úlcera péptica. Más importante aún, datos recientes sugieren que la infección con este organismo es un factor de riesgo significativo para el desarrollo de carcinoma y linfoma gástrico⁵¹.

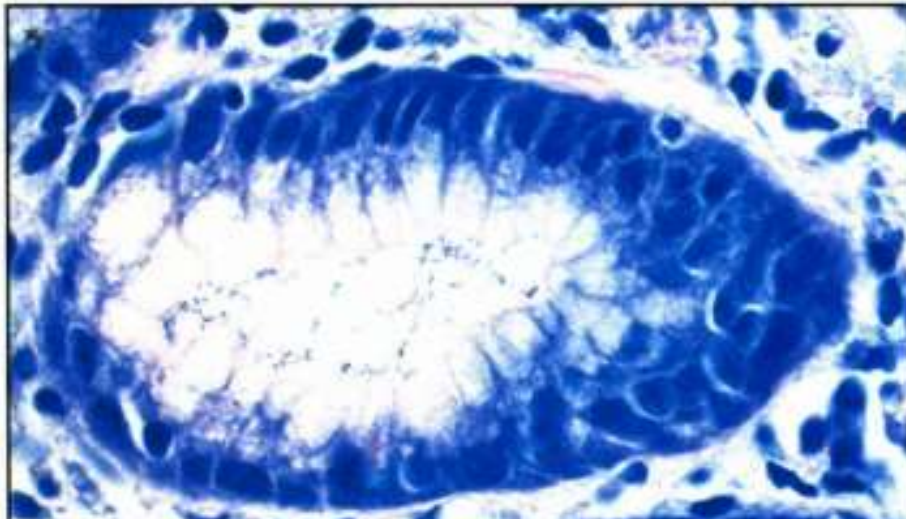


Ilustración 8: En la sección teñida con Diff Quik de una biopsia gástrica se observan muchos bacilos compatibles con *Helicobacter pylori*⁵¹.

Anexo 16: Mesénquima con coloración H-E

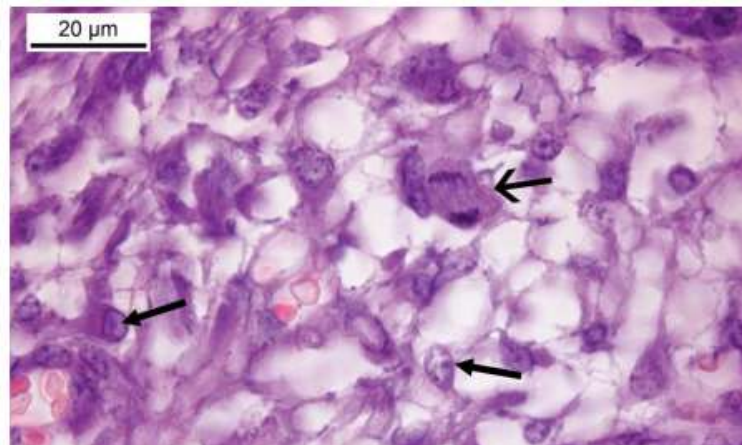


Ilustración 9: Las células mesenquimal exhiben núcleo alargado con cromatina suelta y nucléolo evidente. Imagen de mitosis más frecuente con coloración H-E⁵³.

Anexo 17: Epitelio Cilíndrico Simple del Intestino Delgado con coloración H-E



Ilustración 10: Epitelio Cilíndrico Simple con células caliciformes (*) y planura estriada (←), debajo del epitelio, en el tejido conectivo laxo, observe las células del músculo liso (→) que ayudan a sostener las vellosidades intestinales, coloración H-E⁵³.

Anexo 18: Fuentes bibliográficas seleccionadas para el análisis de muestra

N°	Autor	Año	Título	País	Revista	Referencia
1	Calá G, et al.	2014	Glosario de Morfofisiología Humana	Cuba	MEDISAN	1
2	Verdí S, et al.	2015	Histologia e Inmunohistoquímica	México	Universidad Nacional Autónoma de México	2
3	López P y Casasbuenas J	2015	La biopsia y la citología, pilares del diagnóstico médico (II parte)	Colombia	Rev.Medica.Sanitas	3
4	Sporoni F.	2016	Diccionario de Anatomía e histología	Argentina	Universidad Nacional de la Plata	4
5	Welsch U	2014	Terminología básica	Panamá	Revista medica Panamericana	5
6	Hilario E	2011	Prácticas de Histología Humana	España	Universidad del País Vasco	6
7	Parquet R	2015	George Nicholas Papanicolaou	Argentina	Redalyc	7
8	Contreras R.	2012	Papanicolaou y Citología Líquida en Diagnóstico de Cáncer de Cérvix.	Colombia	Scielo	8
9	Megías M, et al.	2018	Tecnicas histologicas Ampliaciones	España	Universidad de Vigo	9
10	Megías M, et al.	2018	Técnicas histológicas	España	Universidad de Vigo	10
11	Santa Cruz Ó.	2014	Validación del extracto del exocarpo de Renealmia alpinia (kumpia) como colorante nuclear tisular	Perú	Universidad de Wiener	11
12	Montalvo C.	2015	Técnica histológica.	México	Universidad Nacional Autónoma de México	12
13	Suvarna K, et al.	2013	Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques.	China	Elsevier	13

14	Gallego A.	2016	Técnica histológica. Treballs la Soc Catalana Biol	Argentina	Universidad Nacional San Juan	14
15	Ocampo J y Silva J	2013	Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica	México	Latindex	15
16	Mestanza R	2015	Frecuencia de las tinciones histoquímicas de PAS, Grocott y Ziehl- Neelsen utilizadas para la identificación de microorganismos, realizadas en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital de Especialidades Eugenio Espejo en el año 2015	Ecuador	Universidad Central del Ecuador	16
17	Santos S	2017	Tinción Hematoxilina-Eosina	Ecuador	Universidad Nacional de Educación a Distancia	17
18	Megías M, et al	2018	Técnicas histológicas RECETAS	España	Universidad de Vigo	18
19	Ávila G.	2019	Atlas de Histología orientado a la nutrición	España	Libro	19
20	Peñañiel I.	2017	Metodología de integración virtual “histo-tec-blog”, para el aprendizaje de técnicas histológicas, en estudiantes del tercer semestre de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico de la Universidad Nacional de Chimborazo, en el periodo abril-octu. 2017	Ecuador	Universidad Nacional de Chimborazo	20
21	Merck M	2012	. Rápido y seguro. Todo lo que necesita para histología	España	MERCK	21
22	Días X., et al.	2013	Colección de Referencia en Hematología	Guatemala	Universidad de San Carlos de Guatemala	22
23	Villa M., et al.	2012	Validación de la prueba de Papanicolaou en el diagnóstico de vaginosis bacteriana.	Colombia	Scielo	23
24	PanReac A.	2019	Tinción de papanicolau	Estados Unidos	CEIVD14	24
25	Sataloff R., et al.	2017	Coloración de Papanicolaou	Colombia	RenyLab	25

26	León M	2013	.Manual de Procedimientos y Diagnostico de “ Citología Cérvico vaginal ” para la detección Precoz de Cáncer de Cuello uterino en el servicio de Anatomía Patológica y citología de la Caja Petrolera de Salud Departamental La Paz	Bolivia	Universidad Mayor de San Andrés	26
27	Dey P.	2018	Basic and advanced laboratory techniques in histopathology and cytology	India	Springer	27
28	Toro M.	2010	Comparación de las tinciones Hematoxilina-Eosina y Giemsa para la identificación de <i>Helicobacter pylori</i> en muestras de biopsia gástrica de pacientes del Hospital IESS Riobamba entre octubre y diciembre del 2009	Ecuador	Universidad Católica del Ecuador	28
29	Escudero N.	2015	Aplicación de la Tinción Giemsa más Hematoxilina Eosina para Identificar <i>Helicobacter Pylori</i> en Muestras de Biopsias Gástricas de Laboratorio de Patología del Iess de Ambato Provincia de Tungurahua.	Ecuador	Universidad Técnica Ambato	29
30	Ahumada Eet al.	2020	Identificación de <i>Helicobacter pylori</i> por medio de la coloración especial de Warthin Starry en biopsias de pacientes con gastritis crónica folicular, previamente negativas en la tinción de hematoxilina-eosina	Colombia	. Rev Colomb Gastroentero	30
31	Vásconez D. y Lozada J	2017	Método de Coloración Giemsa y Warthin Starry para identificar <i>Helicobacter Pylori</i> en Biopsias Gástricas	Ecuador	Revistas.UTA	31
32	Carreño Y.	2010	Características operativas de las pruebas de antígenos fecales (Elisa) y test de aliento de la urea frente a la tinción de Hematoxilina y Giemsa en histología para el diagnostico de <i>Helicobacter pylori</i> .	Colombia	Universidad Javeriana	32

33	Amores J., et al.	2010	Correlación histológica-microbiológica en el diagnóstico de <i>Helicobacter Pylori</i> .	Cuba	Medigraphic	33
34	Omiste I.	2011	Métodos diagnósticos de la infección de <i>Helicobacter pylori</i> en Huesca	España	Universidad de Zaragoza	34
35	Brüel A., et al.	2012	Histología	España	Libro	35
36	Ross M. y Pawlina W.	2015	Ross Histología Texto Y Atlas Correlación con la Biología Molecular y Celular	España	Libro	36
37	Pawlina W, y Ross M.	2020	Ross Histología Texto Y Atlas Correlación con la Biología Molecular y Celular Wojciech Pawlina	España	Libro	37
38	Bruguera M.	2016	Guía para la interpretación de la biopsia hepática o el examen metódico de la biopsia hepática	Chile	Sociedadgastro	38
39	Rosero D., et al	2014	Histoquímica enzimática en el diagnóstico de miopatías	Colombia	Medigraphic	39
40	Sulbarán A. y Bustillo J.	2016	Datos histopatológicos para la identificación de una reacción por material de relleno en patología bucal.	España	Dialnet	40
41	Valera S.	2010	Citología cervical.	México	Ginecol Obstet Mex	41
42	Rodríguez V., et al.	2014	Revisión bibliográfica sobre la prevención del cáncer en personas inmigrantes residentes en España	España	Scielo	42
43	Belalcazar Y., et al	2014	Barreras que enfrentan las mujeres de 40 a 65 años que acuden a la consulta de Ginecología de la Unidad Metropolitana de Salud Sur para la Realización de la Citología Cervicouterina y la comprensión del Cáncer de Cérnix comparadas con las mujeres de 21	Ecuador	Pontificia Universidad Católica del Ecuador	43
44	Gómez G., et al	2012	citológica : herramienta en el diagnóstico transoperatorio.	México	Medigraphic	44
45	Arnaudo M. y Konicoff A.	2013	Guía de procedimiento para citología exfoliativa	Argentina	Bioanálisis.	45
46	Kobayashi S., et al.	2020	Macrophages in Giemsa-stained cerebrospinal fluid specimens predict carcinomatous meningitis.	Japón	Oncology Letters	46

47	Belgaumi U. y Shetty P.	2013	Leishman Giemsa cocktail as a new, potentially useful cytological technique comparable to Papanicolaou staining for oral cancer diagnosis	Alemania	Revista de citología	48
49	Centro Nacional de Equidad de Género y Salud Reproductiva. Secretaría de Salud	2010	Tinción e interpretación de la Muestra de Citología Cervical	México	Centro Nacional de Equidad de Género y Salud Reproductiva. Secretaría de Salud	49
50	Tinse L.	2011	Manual procedimientos anatomia patologica	Chile	Manual	50
51	Carson F. y Hladik C.	2010	Histotechnology A Self-Instructional	Hong Kong	American Society for Clinical Pathology Press	51
52	Chan J.	2014	The wonderful colors of the hematoxylin-eosin stain in diagnostic surgical pathology	España	PubMed	52
53	Gitirana L.	2021	Colecao Conhecendo:Imagens histológicas dos tecidos	Brasil	Libro	53