



Gobierno de Chile

SERVICIO SALUD AYSÉN
HOSPITAL REGIONAL
COYHAIQUE

**TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO DE
RUTINA EN BIOPSIAS DIFERIDAS Y
CITOLOGÍAS NO GINECOLÓGICAS**

UNIDAD ANATOMÍA PATOLÓGICA

**DEPENDIENTE DE: CENTRO
RESPONSABILIDAD APOYO CLÍNICO**

Código:

Edición: 1

**Fecha Inicio
vigencia:
25/01/2016**

Páginas: 1 - 9

Vigencia: 5 años

TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO DE RUTINA EN BIOPSIAS DIFERIDAS Y CITOLOGÍAS NO GINECOLÓGICAS

ELABORACION	VISACION	APROBACION
Vivian Sáenz	Paulina Arriagada Sandra Gálvez	Jorge Pinilla
TM. Anatomía Patológica Responsable Calidad	OCS	Jefe Anatomía Patológica
 Firma y timbre	 Firma y timbre	 Firma y timbre
11/01/2016	18/01/2016	25/01/2016





1. INDICE:

TITULO	Nº página
Introducción	3
Objetivos	3
Responsables	3
Alcance	3
Excepciones	3
Terminología	3
Descripciones de las Actividades del Proceso	4
Referencias Bibliográficas	9
Evaluación	9
Indicadores	9



2. INTRODUCCION:

Anatomía Patológica es la especialidad de la medicina que se ocupa del estudio de las causas, desarrollo y consecuencias de múltiples enfermedades utilizando técnicas morfológicas. La Unidad de Anatomía Patológica del Hospital Regional Coyhaique procesa todas las biopsias diferidas y citologías no ginecológicas de la red asistencial del Servicio de Salud Aysén.

3. OBJETIVO:

- Describir cada etapa de la Técnica de procesamiento cito/histológica que se realiza en biopsias diferidas y citologías no ginecológicas en la Unidad de Anatomía Patológica.

4. RESPONSABILIDADES DEL CUMPLIMIENTO DEL PROTOCOLO:

RESPONSABLE	FUNCION
Jefe Anatomía Patológica	<ul style="list-style-type: none">• Velar por el cumplimiento del protocolo de control calidad APA.
Anatomopatólogos, Tecnólogos Médicos, auxiliar, secretario	<ul style="list-style-type: none">• Conocer, cumplir y aplicar protocolo.
Tecnóloga Médico encargado de Calidad	<ul style="list-style-type: none">• Evaluar y supervisar periódicamente el indicador.

5. ALCANCE

- Este protocolo debe aplicarse para la ejecución de todos los procedimientos que se realizan en la biopsia diferida.

6. EXCEPCIONES: N/A

7. TERMINOLOGIA

Fijación: Es preservar en los tejidos celulares, las características morfológicas y moleculares lo más parecidas posibles a las que poseía en su estado vivo.

Bloque celular: El bloque celular se obtiene recuperando del líquido o aguja de punción los restos tisulares y, tras fijación en formalina e inclusión en parafina, se tiñen con H&E, técnicas histoquímicas e inmunohistoquímicas, según proceda.

Inclusión histológica: es el método más común proveer soporte al tejido para permitir su posterior corte. Consiste en infiltrar la muestra con sustancias líquidas que tras un proceso de polimerización o enfriamiento se solidifican, sin afectar a las características del tejido.



Tinción histológica: La mayoría de los tejidos, sobre todo los de los animales, son incoloros y por ello necesitamos teñirlos para observar sus características morfológicas con el microscopio óptico. Ello se consigue con el uso los colorantes, sustancias coloreadas que son capaces de unirse de manera más o menos específica a estructuras del tejido aportándoles color.

Biopsia: Estudio macro y/o microscópico de una muestra total o parcial de un órgano o tejido, obtenido de un ser vivo, para orientar una conclusión diagnóstica.

Biopsia Intraoperatoria: Consulta solicitada al anatómico patólogo durante el procedimiento operatorio, cuyo objetivo es orientar la conducta quirúrgica, a través de una indicación o diagnóstico presuntivo inmediato.

8. DESCRIPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES DEL PROCESO:

8.1. Técnicas de fijación:

- La fijación consiste en interrumpir los procesos de degradación que aparecen tras la muerte celular, tratando de conservar la arquitectura y composición tisular lo más próxima posible a como se encontraba en el organismo vivo. En función del estudio microscópico que se vaya a realizar existen diversos tipos de fijadores.
- Tipos de fijadores usados en la Unidad de Anatomía Patológica del Hospital Regional Coyhaique.

Tipo de fijador	Tipo de muestra
Formalina 10% tamponada	Se utiliza para todo tipo de biopsias y citologías generadas en el Hospital Regional Coyhaique.

- Protocolo de preparación de Fijadores:
 - Formalina Tamponada al 10%: El establecimiento adquiere este fijador listo para usar. No se requiere preparación del reactivo.
- Protocolo de Fijación en el Establecimiento:
 - La unidad de Anatomía Patológica distribuirá a todos los servicios clínicos frascos de diferentes volúmenes con la cantidad de formalina necesaria (10 a 20 veces volumen de la muestra) para la fijación de la biopsia.

8.2. Procesos de deshidratación, aclaramiento e impregnación de tejidos:

- Posterior a la Macroscopía, las muestras ya fijadas, se colocan en cassetes histológicos numerados y se distribuyen en el canastillo del procesador de tejidos.
- Se programa el procesador de tejidos en modo automático durante 18 horas.

8.3. Programación del Procesador Automático de Tejidos:

Estación	Reactivo	Tiempo	Etapas
1	Alcohol 70%	1 hora	Deshidratación
2	Alcohol 70%	1 hora	
3	Alcohol 95%	1 hora y media	
4	Alcohol 95%	1 hora	
5	Alcohol 100%	1 hora	
6	Alcohol 100%	1 hora y media	
7	Alcohol 100%	1 hora y media	
8	Neo-Clear I	1 hora y media	Aclaramiento
9	Neo-Clear II	1 hora y media	
10	Neo-Clear III	1 hora y media	
11	Parafina I 60°	2 horas	Impregnación
12	Parafina II 60°	3 horas	

- Transcurridas las 18 horas, el canastillo con muestras se retira del procesador y se lleva al centro de inclusión.

8.4. Procedimiento de Inclusión (formación de taco de parafina):

- Para formar el taco, se utiliza un histomolde acorde al tamaño de la muestra y se procede a la inclusión en parafina fundida a 60°C, para luego enfriar el taco en platina fría.
- Una vez fría la parafina, se desmolda el taco.
- Se ordenan los tacos según número de biopsia correspondiente.
- Deben coincidir el número de tacos con número cassetes realizados en la Macroscopía.



8.5. Corte histológico, tinción y montaje:

Procesamiento biopsia diferida:

- Se chequea en el sistema informático los requerimientos especiales tales como nuevos cortes y niveles, técnicas histoquímicas e inmunohistoquímicas y descalcificaciones. Se buscan estos tacos y se ordenan junto a los tacos correspondientes del día.
- Una vez revisadas y ordenadas las inclusiones se procede a realizar el corte histológico.
- Colocar cassette en porta muestra del micrótomo.
- Orientar y desgastar el taco hasta que la superficie de corte sea la correcta.
- Obtener cortes de 3, 4, 5 o 6 micras según tipo de muestra.
- Estirar corte en baño de flotación a 48 o 50° C.
- Recoger corte en portaobjetos con medio adhesivo, rotulado con N° de Identificación de la biopsia y ordenar en rack de tinción.
- Llevar el rack con cortes histológicos al equipo automático de tinción y colocarlo en la estación de entrada.
- A todas las biopsias endoscópicas y biopsias incisionales de cuello uterino se les realiza un nivel profundo de rutina.

Procedimiento de Tinción de Rutina regresiva (H&E) en Equipo Gemini AS Thermo scientific.

Estación	Etapa	Tiempo	Reactivo
1	Secado	45 min.	Estufa 60°C
2	Desparafinación	10 min.	Neo-Clear
3	Desparafinación	10 min.	Neo-Clear
4	Desparafinación	10 min.	Neo-Clear
5	Hidratación	5 min.	Alcohol 100%
6	Hidratación	5 min.	Alcohol 100%
7	Hidratación	3 min.	Alcohol 95%
8	Hidratación	3 min.	Alcohol 95%
9	Hidratación	3 min.	Alcohol 70%
10	Hidratación	2 min.	Agua corriente
11	Tinción	14 min.	Hematoxilina Harris
12	Lavado	2 min.	Agua corriente
13	Diferenciación	1 seg.	Alcohol ácido
14	Lavado	2 min.	Agua corriente
15	Azular	2 min.	Agua amoniacal
16	Lavado	2 min.	Agua corriente
17	Tinción	4 min.	Eosina Y 0,5% acuosa
18	Deshidratación	30 seg.	Alcohol 70%
19	Deshidratación	30 seg.	Alcohol 95%
20	Deshidratación	30 seg.	Alcohol 95%
21	Deshidratación	1 min.	Alcohol 100%
22	Deshidratación	2 min.	Alcohol 100%
23	Aclaramiento	5 min.	Neo-Clear
24	Aclaramiento	5 min.	Neo-Clear
25	Aclaramiento	5 min.	Neo-Clear

- Una vez que termina el proceso de tinción, los racks con las láminas se llevan a la cabina de extracción de gases para limpiar los cortes.
- Las láminas histológicas, se llevan al equipo automático para cubrir láminas Clear Vue y se utiliza medio de montaje Neo-Mount que es compatible con Neo-Clear.
- Limpiar el excedente de medio de montaje y dejar secar.
- Revisar al microscopio óptico la calidad de corte y tinción de las láminas.
- Compaginar que la cantidad de cortes y láminas correspondan a la inclusión respectiva, de acuerdo a la descripción macroscópica.
- Ordenar las placas histológicas en bandejas y adjuntar la orden de examen de biopsia correspondiente.
- Entregar la bandeja con láminas al Médico Patólogo.



Técnicas de Rutina en Laboratorio

Técnicas de Rutina	Tipos de biopsias
H&E	TODAS LAS BIOPSIAS DE LA UNIDAD
PAS	BIOPSIAS ENDOCÓPICAS DE ESTOMAGO BIOPSIAS ENDOSCÓPICAS DE ESOFAGO BIOPSIAS ENDOSCÓPICAS DE DUODENO BIOPSIAS DE PIEL
GIEMSA	BIOPSIAS ENDOCÓPICAS DE ESTOMAGO
AZUL ALCIAN	BIOPSIAS ENDOSCÓPICAS DE ESOFAGO NO TUMORALES

8.6. Procesamiento de muestras citológicas:

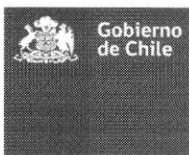
En el laboratorio de Anatomía Patológica las muestras citológicas se procesan de dos formas:

a) Extendido citológico o improntas.

- Lavar en agua corriente el fijador citospray de los portaobjetos
- Teñir los frotis con Tinción de rutina progresiva, Hematoxilina/Eosina
- Ordenar las láminas histológicas, de acuerdo a la descripción macroscópica en bandejas y adjuntar la orden de examen de estudio correspondiente.
- Entregar la bandeja con láminas al Médico Patólogo.

Procedimiento de Tinción de Rutina progresiva (H&E)

REACTIVO	TIEMPO
HEMATOXILINA	1-2 MINUTOS
AGUA AMONIACAL	30 SEGUNDOS
EOSINA	30 SEGUNDOS
ALCOHOL 70%	10 DIPPING
ALCOHOL 96%	10 DIPPING
ALCOHOL 96%	10 DIPPING
ALCOHOL 100%	10 DIPPING
ALCOHOL 100%	10 DIPPING
NEOCLEAR 1	10 DIPPING
NEOCLEAR 2	10 DIPPING



**SERVICIO SALUD AISEN
HOSPITAL REGIONAL
COYHAIQUE**

b) Procedimiento Bloque Celular para líquidos citológicos y PAAF.

- La muestra debe ser enviada en tubos cónicos o frasco a la Unidad de AP.
- La muestra debe llegar idealmente con líquido fijador. (Formaldehído o alcohol 95°)
- Homogenizar la solución con vórtex a 16 rpm.
- Centrifugar durante 30 minutos a máxima velocidad.
- Eliminar sobrenadante y dejar una fina capa sobre el sedimento.
- Romper sedimento con pipeta pasteur de plástico y homogenizar con vortex a 8 rpm.
- Agregar 2 ml aprox. de agar líquido al 3% (este paso debe ser rápido para evitar la solidificación del agar)
- Mezclar con pipeta el agar y sedimento.
- Homogenizar la muestra con agar en vórtex a máxima velocidad y dejar enfriar al menos dos horas.
- Finalmente, seguir el protocolo de procesamiento de la biopsia diferida.
- Teñir los frotis con Tinción de rutina regresiva, Hematoxilina/Eosina
- Ordenar las láminas histológicas, de acuerdo a la descripción macroscópica en bandejas y adjuntar la orden de examen de estudio correspondiente.
- Entregar la bandeja con láminas al Médico Patólogo.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Manual Procedimientos de Anatomía Patológica, Hospital Santiago Oriente. Dr. Luis Tisné.
- Procedimiento de inclusión de biopsias en la Unidad de Anatomía Patológica. Hospital Doctor Hernán Henríquez Aravena.
- Procedimiento de corte histológico de la Unidad de Anatomía Patológica. Hospital Doctor Hernán Henríquez Aravena.

10. EVALUACIÓN: N/A

11. INDICADORES: N/A