



CURSO PARA TÉCNICOS DE ANATOMÍA PATOLÓGICA

FIJACIÓN Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Lola I. Segura
DPTO. ANATOMÍA PATOLÓGICA. HH.UU. VIRGEN DEL ROCÍO

FIJACIÓN Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

- FIJACIÓN
- CONGELACIÓN
- INCLUSIÓN (Parafina, Epon)
- MICROTOMÍA
- TINCIÓN (Hematoxilina-Eosina, tricrómico,)
- TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS (Carbohidratos, Proteínas y lípidos)
 - Carbohidratos.
 - Proteínas. Enzimas. Inmunohistoquímica
 - Lípidos.

RECEPCIÓN DE MUESTRAS



MACROSCOPIA Y TALLADO



LABORATORIOS



ESTUDIO MICROSCÓPICO
Y DIAGNÓSTICO



SALA DE INFORMES



EQUIPO CLÍNICO
Y PACIENTES



Microscopio

La **fijación** de los tejidos va en paralelo con el uso del microscopio tanto por la necesidad de conseguir cortes suficientemente finos que puedan de ser atravesados por la luz, como para conseguir la conservación de las muestras

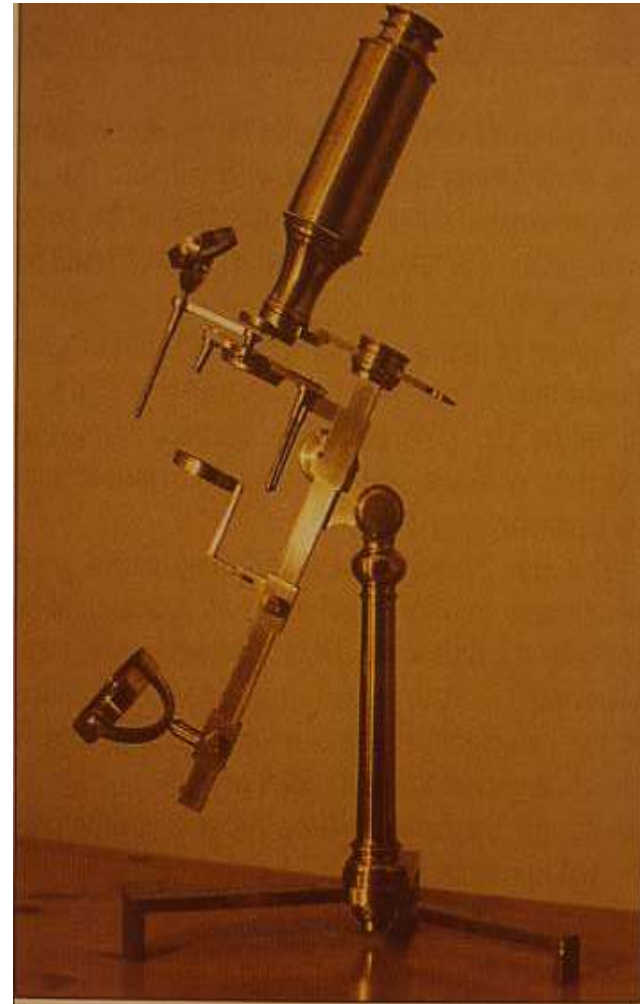
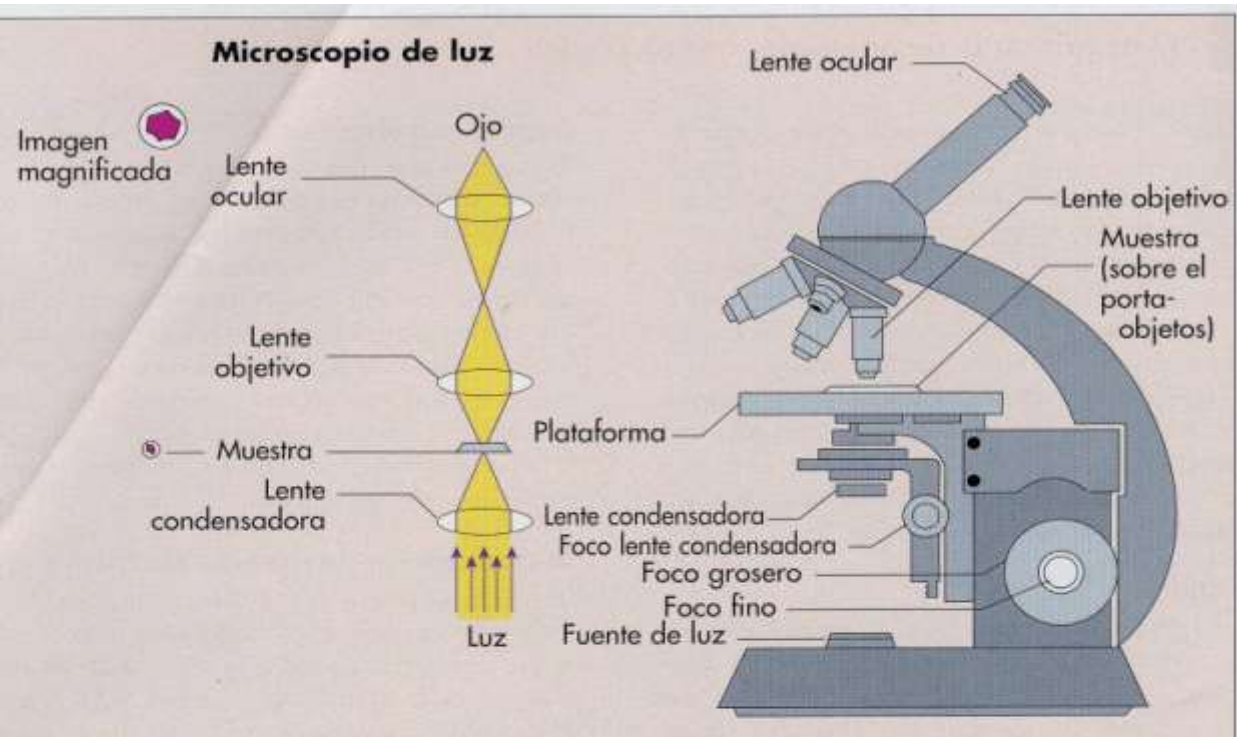
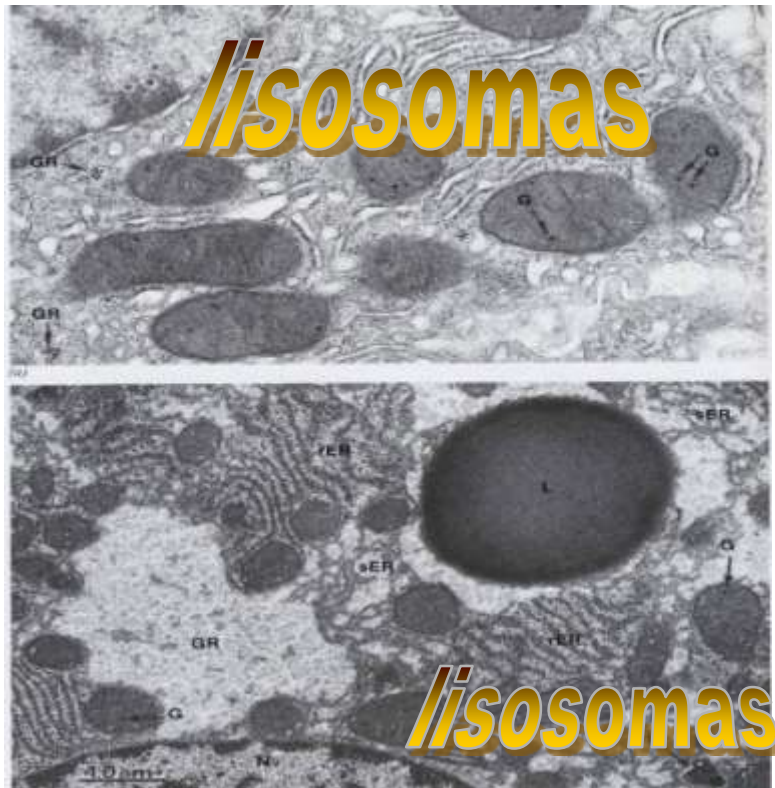


Fig. 1. Late 18th century Jones Most Improved

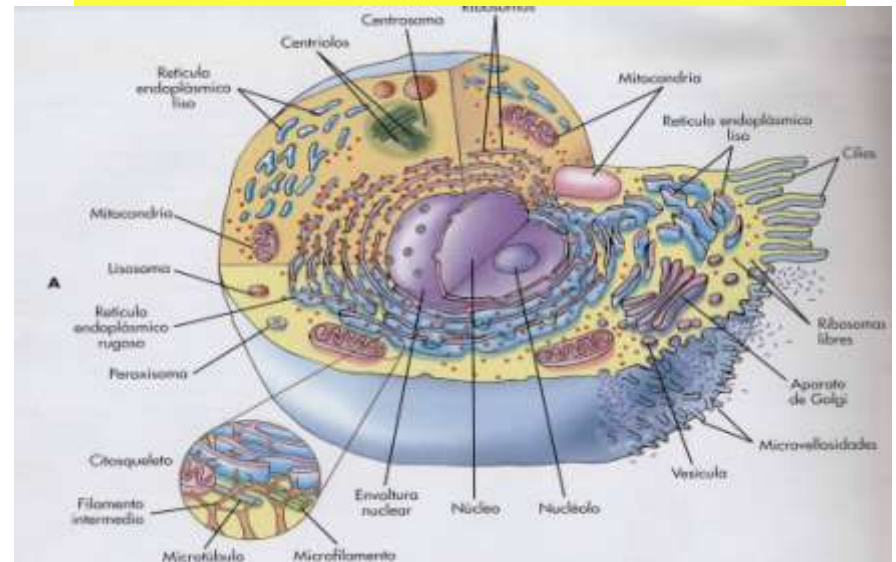
FIJACIÓN

¿ Por qué es necesario fijar las muestras?

Porque si no el material se autolisa, es decir se autodestruye



•Vesículas rodeadas de membrana que tienen en su interior hasta 40 tipos de enzimas.
Es el “aparato digestivo” de la célula .



FIJACIÓN

Con la palabra **FIJACIÓN** queremos indicar, en este campo de la Anatomía Patológica, el procedimiento mediante el cual **detenemos la destrucción, la autólisis de las células y el material extracelular**, que se produciría en las biopsias y, en general, en cualquier muestra de material orgánico, una vez separado del organismo al que pertenecía, **por la acción de las enzimas liberadas por los lisosomas** destruidos.

Pero no es sólo esto (esto lo podríamos llamar “conservación”); con la **FIJACIÓN** se pretende además, **mantener la ordenación espacial** tridimensional de células y fibras (Baker, 1963)

FIJACIÓN

La **FIJACIÓN** pretende no sólo la conservación de la microanatomía, sino además de los componentes químicos tisulares.

the best compromise for fixation and processing should minimize changes in tissue following its removal from the living organism **in both organizational structure and chemical composition** ([Grizzle 2001](#), [Grizzle et al. 2007](#)).

Grizzle WE. The use of fixatives in diagnostic pathology. *J. Histotechnol.* 2001;24:151–152.

Grizzle WE, Fredenburgh J, Myers RB. Fixation of tissues. In: Bancroft J, Gamble M, editors. *Theory and Practice of Histological Techniques*. 6th ed. Edinburgh, UK: Churchill Livingstone; 2007. pp. 53–74.

FIJACIÓN

FIJADOR IDEAL. Características:

- Prevenir la autólisis
- Preparar el tejido para el procesamiento posterior
- Prevenir el daño osmótico
- Preparar al tejido para la “tinción” posterior
- Endurecer el tejido para facilitar su fácil sección
- Prevenir al tejido de retracción y de rotura
- Hacer que los componentes tisulares resistan la extracción por el agua y los solventes orgánicos
- Preservar el tejido en un estado similar al “estado vivo”

LA ESTRUCTURA DE UN TEJIDO DEPENDE FUNDAMENTALMENTE DE LA CONFIGURACIÓN Y CONTENIDO DE LAS PROTEÍNAS EXISTENTES:

- **Lipoproteínas** existentes en las membranas celulares
- Los ácidos nucleicos asociados **a nucleoproteínas**
- **Proteínas globulares y fibrilares** en el citoplasma
- **Glicoproteínas mucosas y estructurales**
- **Glicoproteínas fibrosas** extracelulares

Fijadores Químicos

- **Fijadores simples:**

No coagulantes: Producen un **efecto aditivo con las proteínas:**
Formaldehído, tetróxido de osmio, ácido acético

Coagulantes: Producen grave **alteración de la estructura proteica**, desnaturalización, y sin embargo hay una buena conservación de los carbohidratos. Etanol, metanol, ácido pícrico, cloruro de mercurio

- **Mezclas fijadoras.**

Clarke (etanol y ácido acético)

Carnoy (etanol, ácido acético, cloroformo)

Bouin (Formalina, ácido pícrico, ácido acético)

Metacarn (etanol, metanol)

Formol sublimado (con sales de zinc)

Fijadores Químicos

Los más utilizados son los compuestos aldehídicos que establecen puentes con grupos aminos de las proteínas .

- **Formaldehido** **HCHO** (Solución acuosa, formalina) 1 Carbono, 1 grupo aldehído
- **Glutaraldehido** **CHO-CH₂- CH₂-CH₂-CHO**
5 Carbonos, 2 grupos aldehídos

Fijadores Químicos. Formaldehído

Reaction of formaldehyde with proteins; cross-linking of amino groups with phenol, imidazole, or indole groups.

[FRAENKEL-CONRAT H, OLCOTT HS.](#)

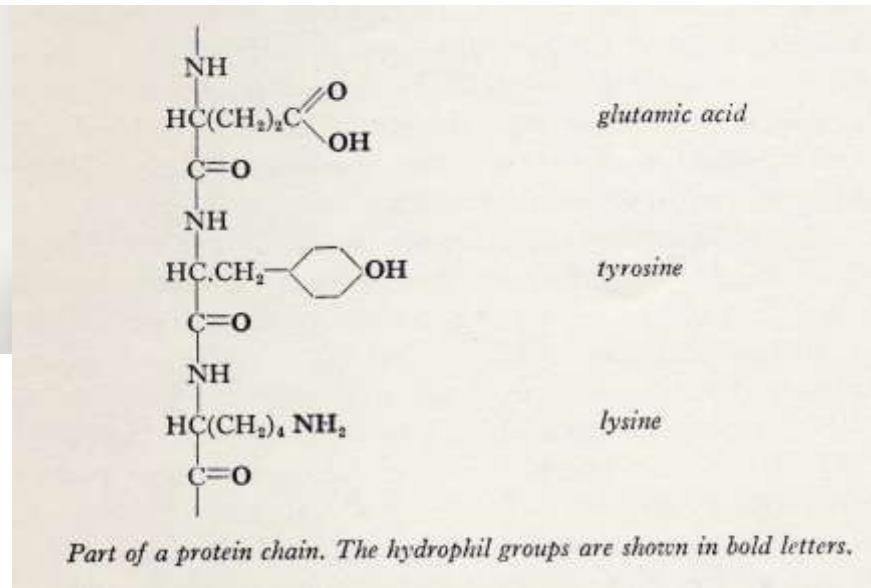
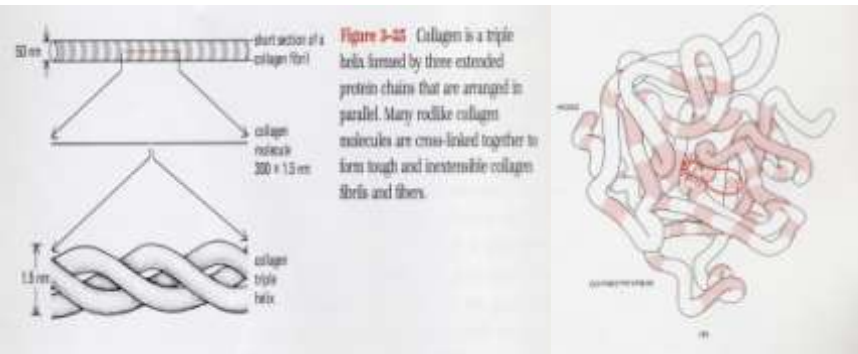
J Biol Chem Jul; 174 (3): 827-43, 1948

The reaction of formaldehyde with proteins; cross-linking between amino and primary amide or guanidyl groups.

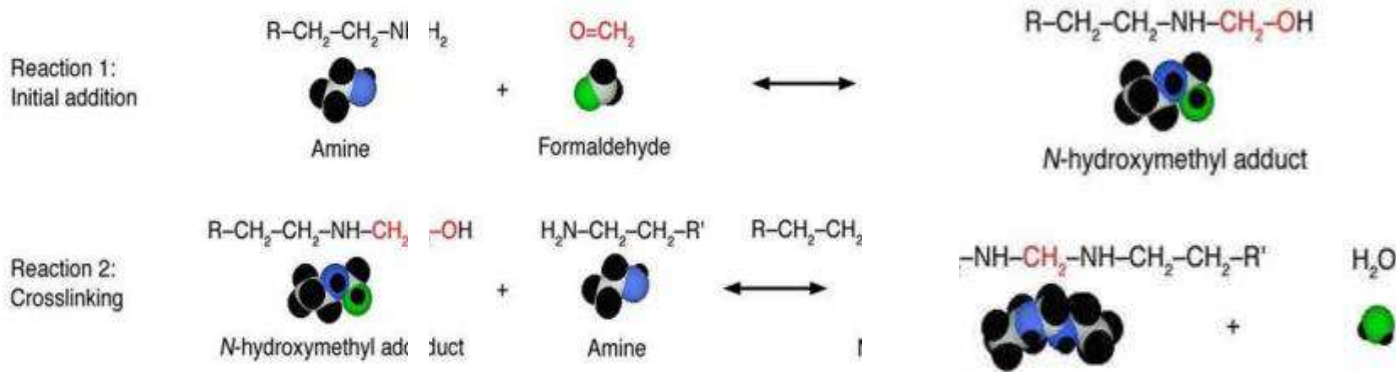
[FRAENKEL-CONRAT H, OLCOTT HS.](#)

J Am Chem Soc Aug; 70 (8): 2673-84, 1948

¿CÚAL ES LA ACCIÓN QUE REALIZAN LOS FIJADORES ALDEHÍDICOS EN LAS CÉLULAS PARA FIJARLAS?



ES UNA UNION ENTRE GRUPOS NH₂ DE LAS PROTEINAS Y LOS ALDEHÍDOS DE LOS FIJADORES



Reacción del formaldehído con grupos aminos de las proteínas

FIJACIÓN Formol (formaldehído).

- Fijador más usado para microscopia óptica.
- Este aldehído de fórmula H-CHO , lo encontramos en solución acuosa (formalina), a una concentración de **37 a 40% p/v**. Esto quiere decir que en 100 ml de formol “comercial”, hay 37-38 gramos de formol.
- La concentración de uso es el **10% v/v**, o **3,7- 4% p/v**, en una solución tamponada a pH neutro.

FIJACIÓN Formol.

Se utiliza al 10% v/v a pH 7,0 (formol tamponado neutro). Esto se prepara añadiendo 10ml de la solución de formol (como lo vende el fabricante) a 90 ml de una solución tamponada (fosfato de Sorensen) a pH 7. A pH neutro la mayoría de los grupos aminos y amidos de los aminoácidos básicos, son muy reactivos con el formaldehído. A pH básico son aminoácidos como la alanina los más reactivos.

La muestra hay que introducirla lo antes posible en el fijador. **No depende directamente de nosotros, generalmente.**

La relación de volumen entre muestra a fijar y fijador debe ser de 1:20 como mínimo. **Este punto lo podemos subsanar**

La muestra a fijar no debe ser muy gruesa, pues de lo contrario las zonas centrales no se fijaran bien. **El formol fija en 24h una muestra de un grosor de 3-5 mm . Este punto lo podemos subsanar**

El tiempo de fijación es variable, dependiendo, fundamentalmente de las dimensiones de la muestra a fijar. Muestras pequeñas no más de 8 horas. Muestras grandes no más de 24 horas. **Depende de nosotros**

REPERCUSIONES DE LA ACCIÓN FIJADORA DEL FORMOL

La fijación es un punto crucial para conseguir una buena morfología y unos resultados fiables en la demostración molecular. Llegar a un tiempo óptimo es importante (Un "exceso" de fijación, bueno para la morfología, puede interferir la demostración de moléculas)

- Las proteínas se pueden demostrar tras fijación en formol por métodos inmunohistoquímicos, tras recuperación antigénica, **pero no se puede demostrar actividad enzimática y tenemos que hacer congelación**
- Los ácidos nucleicos (ADN, ARN). ADN se puede demostrar tras fijación en formol, **pero para ARN tenemos que hacer congelación**
- Los lípidos, grasas neutras se pierden en su mayor parte, tras la fijación en formaldehído, por el procesado posterior previo a la inclusión en parafina

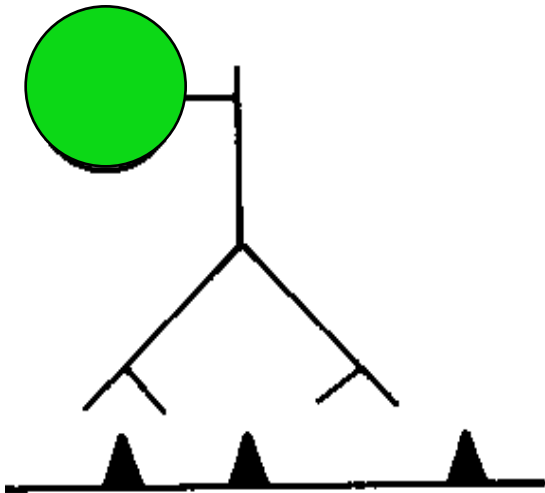
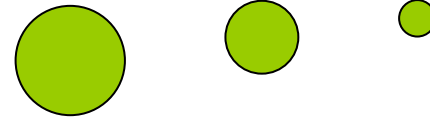
FIJACIÓN

Glutaraldehído (CHO-CH₂-CH₂-CH₂-CHO).

- Fijador más usado para **microscopía electrónica**, por su **mayor capacidad de fijación** que la del formaldehído, ya que es una molécula con dos grupos aldehídos. Fue introducido por Sabatini en 1963.
- **La penetración en el tejido es mucho más lenta que la del formaldehído por dos razones:**
 - Es una molécula de mayor tamaño (5 carbonos). El glutaraldehído penetra en 24h un grosor de no más de 2mm.
 - Las primeras micras fijadas por el glutaraldehído, constituyen una barrera para la ulterior penetración del fijador.

NACE LA IMMUNOFLUORESCENCIA (COONS, 1964)

"As a tool immunofluorescence is simple in concept, but its successful use requires knowledge of immunology and skill in its application"



TISSUE
SECTION

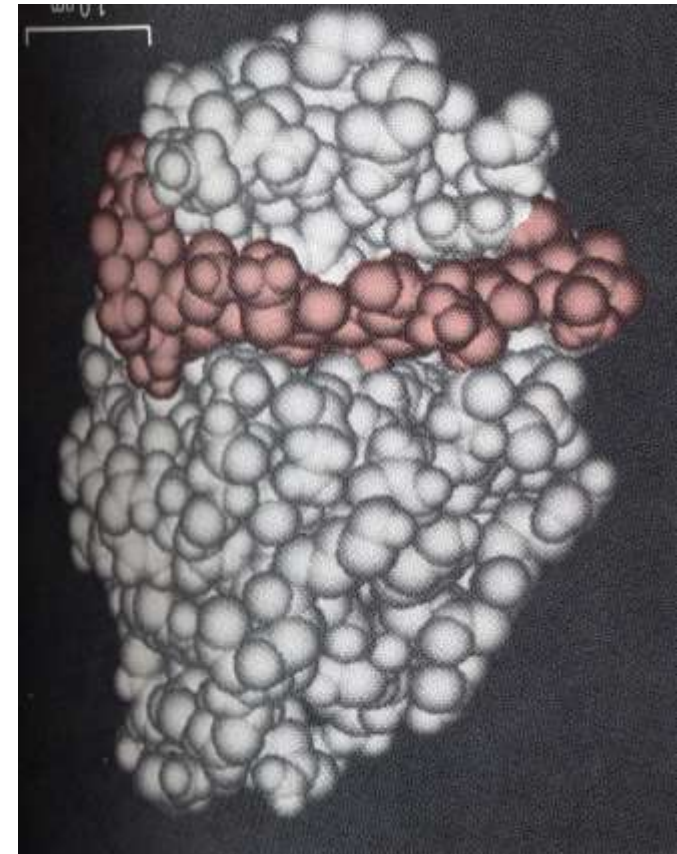
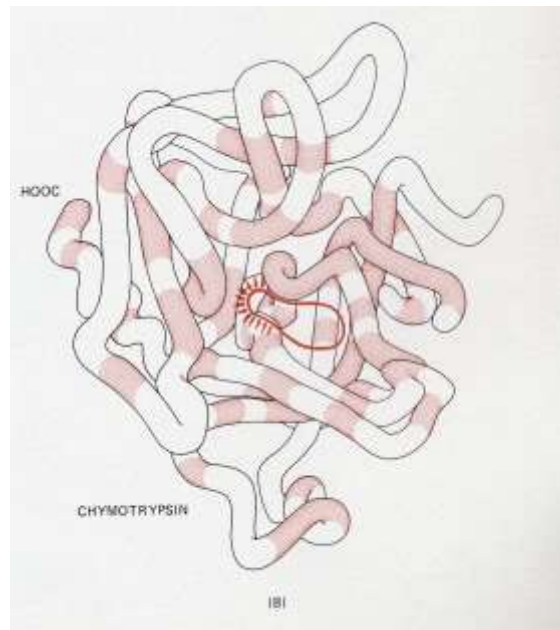
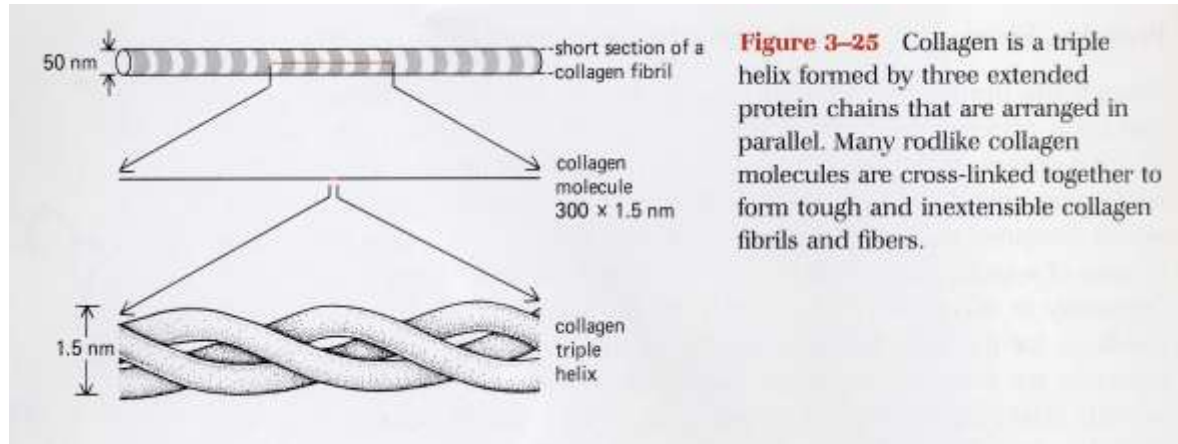


FIJACIÓN E INMUNOHISTOQUÍMICA

Sea cual fuere el método inmunohistoquímico refinado de detección o la automatización elegidos, el resultado final va a depender del manejo que hagamos de la muestra tisular ó citológica y de forma fundamental de la fijación

La fijación, desde el punto de vista de la Inmunohistoquímica, tiene que conseguir un compromiso entre las condiciones para obtener una morfología adecuada y la necesidad de respetar los lugares antigénicos de las moléculas que pretendemos demostrar.

ESTRUCTURA TERCIARIA DE PROTEÍNAS



FIJACIÓN E INMUNOHISTOQUÍMICA

- Un exceso de fijador reduce la inmunoreactividad del tejido.
- El efecto de cada fijador sobre un antígeno puede ser distinto según la localización histológica y anatómica de dicho antígeno.
- Existen determinados antígenos de superficie o receptores nucleares cuya determinación en tejidos fijados no proporciona buenos resultados, por eso debe realizarse en tejido congelado.
- En muestras de gran volumen la **fijación por inmersión** en la solución fijadora proporciona resultados variables en cuanto a positividad inmunohistoquímica ya que las zonas mejor fijadas se teñirán más que las más profundas.

FIJACIÓN en formol e INMUNOHISTOQUÍMICA

O'Leary's group suggests that there may be at least three ways by which formaldehyde can reduce immunorecognition of the epitopes of proteins. These include :

- 1) “formation of extensive crosslinks by fixation **reduces penetration of the primary antibody to the antigen target,**”
- 2) “reaction of formaldehyde with the **target epitope reduces immunoreactivity,**”
- 3) “the reaction with formaldehyde (of the antigen) causes **changes in protein secondary structure and that reduces immunoreactivity.**”

While these are the most likely, there probably are other possibilities. These include blocking the access of the secondary detection system to the primary antibody via structural changes upon fixation by aldehydes.

Effects of formaldehyde fixation on protein secondary structure: a calorimetric and infrared spectroscopic investigation. J Histochem Cytochem. 1991 Feb;39(2):225-9.

[Mason JT](#), [O'Leary TJ](#).

. Protein fixation and antigen retrieval: chemical studies. Biotech. & Histochem. 2009 O'Leary TJ, Fowler CB, Evers DL, Mason JT

FIJACIÓN en formol e INMUNOHISTOQUÍMICA

Am J Surg Pathol. 2000 Jul;24(7):1016-9.

Effect of formalin tissue fixation and processing on immunohistochemistry.

[Werner M](#), [Chott A](#), [Fabiano A](#), [Battifora H](#).

.

Abstract

Although immunohistochemistry is routinely performed by many pathology laboratories, its standardization still lags behind. **A major cause of variation in the reproducibility of immunohistochemical staining is induced by tissue fixation and, to a lesser degree, tissue processing.** This report, stemming from the first meeting of the International Consensus Group on Standardization and Quality Control (ICGSQC) in Nice, France, summarizes the problem and suggests solutions to begin to achieve standardization of fixation and processing. Most laboratories use neutral-buffered formalin (10%) for tissue fixation which introduces cross-links, whereas coagulative fixatives are less popular. **Problems with formalin fixation comprise delay of fixation and variations in the duration of the fixation mainly. Solutions to these problems could be to start fixation soon (<30 min) after surgical removal of the tissue and to avoid overfixation (>24-48 hrs).**

FIJACIÓN e INMUNOHISTOQUÍMICA

J Histochem Cytochem. 1989 Jul;37(7):1063-8 Histochemical blockade of the antigen-antibody reaction using immunoperoxidase demonstration of lysozyme in paneth cells and lamina propria mononucleocytes of human small intestine as a model system. [Montero C](#), [Segura DI](#).

Departamento de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, Spain

Nitrosation and acetylation, two histochemical blocking procedures for amino groups, were used to establish the extent to which these groups intervene in the antigen-antibody reaction in immunohistochemistry. We used the peroxidase-antiperoxidase method (PAP) to demonstrate lysozyme in Paneth cells and in lamina propria mononucleocytes of human small intestine as a model system. We studied the relationship of these groups to fixation, concentration of the primary antiserum, and length of blockade, as well as the possibility of reversing blockade as proof of specificity. Our findings support the contention that amino groups are also an important factor in antigen-antibody binding, even in fixed tissue. Fixatives influence the binding process in many ways, with acetylation producing a more successful result than nitrosation in tissue fixed in Bouin without acetic acid, whereas the reverse is true in formaldehyde-fixed tissue.

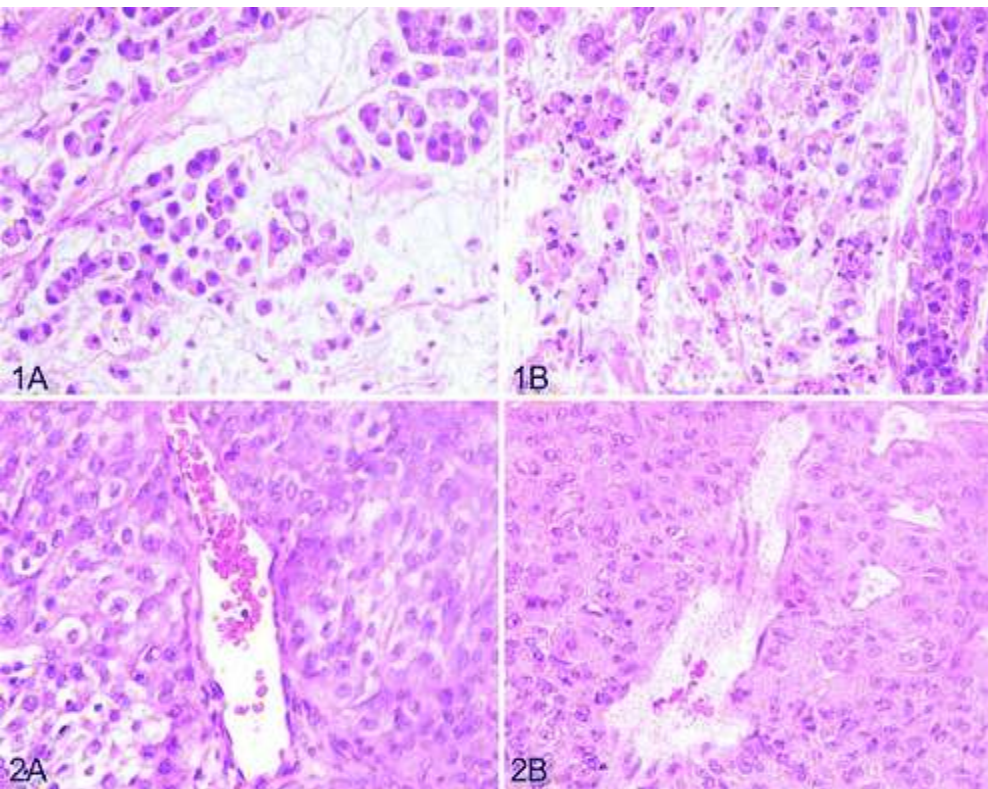
FIJACIÓN e INMUNOHISTOQUÍMICA

Histochem J. 1991 Mar;23(3):125-31. Blockade of the antigen-antibody reaction using benzil condensation with the guanidyl residue of arginine.[Montero C](#), [Segura DI](#), [Gutierrez M](#).

Department of Pathology, University Hospital Virgen del Rocío, Sevilla, Spain.

Benzil blockade of the guanidyl group of arginine was tried on sections of paraffin-embedded tissue fixed in two different fixatives, in an attempt to evaluate the relevance of this amino acid to the reaction of several proteins with their corresponding antibodies. The two fixatives were 10% formaldehyde, and Bouin's fluid without acetic acid. Both polyclonal and monoclonal antibodies against proteins or peptides (lysozyme, adrenocorticotrophic hormone, growth hormone, placental lactogen, and prolactin) were used on human biopsies or material from autopsies. The blockade was effective when monoclonal antibodies were used, whereas no effect or only a small decrease of the intensity of the reaction was observed with polyclonal antibodies. The least definitive result was obtained with prolactin, where a complete blockade was never achieved with monoclonal antibodies. Calcitonin, a peptide that does not contain arginine, was used as a control not susceptible to benzil blockade; no blockade of immunostaining was observed.

In 1987, the Formaldehyde Standard became law in the United States, alerting laboratory workers to the potential carcinogenicity of formaldehyde.



Fixative	Composition
Glyo-Fixx	Ethanol, glyoxal, 2-propanol, methanol
STF	Bromonitropropandiol, diazolidinyl urea, zinc sulfate, formaldehyde
Omnifix II	Ethyl alcohol, ethylene glycol, acetic acid, sodium chloride, zinc chloride
Histochoice	Glyoxal, sodium chloride, butanedial, zinc sulfate
Histofix	Pyrrolid-2-one, urea, zinc salt, methanol

Parameter	Formalin	Glyo-Fixx	STF	Omnifix II	Histochoice	Histofix
Overall morphology	3.00	3.00	2.75	2.86	2.75	2.82
Overall staining	3.14	2.89	3.04	2.79	2.75	2.5
Cellular outline	3.29	3.18	2.43	2.93	2.36	2.64
Cytoplasmic detail	2.86	2.82	2.75	2.93	2.46	2.64
Nuclear detail	3.21	3.64	2.96	3.18	3.29	3.21
Erythrocyte integrity	3.11	1.43	3.04	1.46	2.32	1.50
Lymphocyte appearance	2.93	3.36	2.79	3.04	2.89	2.96

* 1 = poor; 2 = fair; 3 = good; 4 = excellent; and 5 = outstanding.

Histomorphologic assessment of formalin substitute fixatives for diagnostic surgical pathology. [Titford ME](#), [Horenstein MG](#). Arch Pathol Lab Med. 2005 Apr;129(4):502-6
Department of Pathology, University of South Alabama, Mobile, USA.

Table 1 Fixatives used and their properties

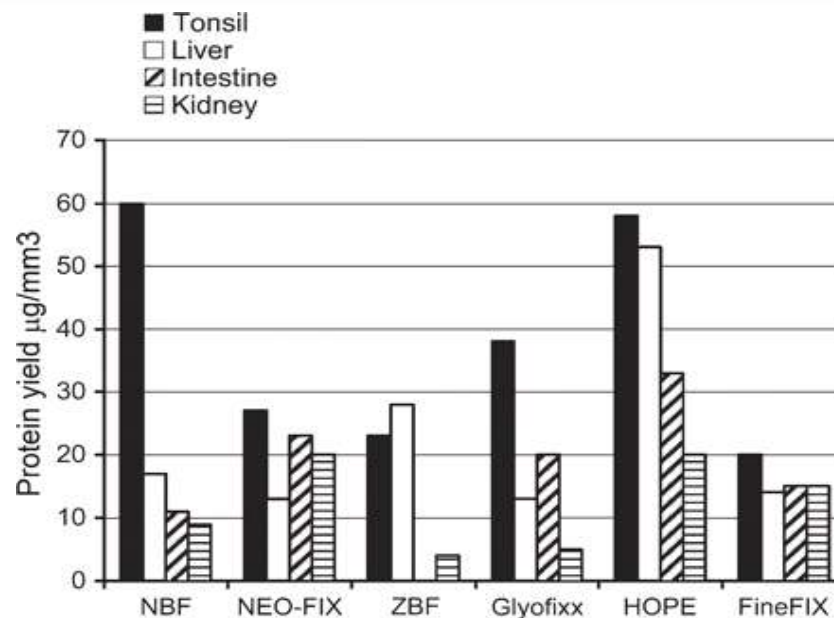
Fixative	Distributor	Active chemical agents	Fixating properties (according to distributor)
FineFIX	Milestone Medicals; Kalamazoo, MI	Ethanol (70%) together with patent formula	Not provided
Glyo-fixx	Thermo Electron Corporation	Glyoxal, a two-carbon dialdehyde	Binds to methyl, amide, and hydroxyl groups. Some crosslinking may occur, but linkages are longer than with formaldehyde.
HOPE	DCS Innovative; Hamburg, Germany	Hepes glutamic acid buffer	Amino acids and glucose, together with acetone as dehydrating agent, provide a protection effect.
NBF	Histolab Products AB	Formaldehyde	Crosslinking mechanism
NEO-FIX	Merck Pharmaceuticals; Whitehouse Station, NJ	Alcohol	Coagulating mechanism
ZBF	No distributor; made in laboratory	Zinc salts	Unknown mechanism
ZnF	Thermo Fisher Scientific, Inc.	Zinc salts and formaldehyde	Same as for NBF, thus providing more-efficient fixation due to zinc

The fixatives are ordered alphabetically. NBF, neutral-buffered formalin.

Table 2 Protein extraction yields from differently fixed tissue types

Fixative	Tonsil	Liver	Kidney	Intestine
NBF	60	17	9	11
NEO-FIX	27	13	20	23
ZBF	23	28	4	*
Glyo-fixx	38	13	5	20
HOPE	58	53	20	33
FineFIX	20	14	15	15

Results are presented as $\mu\text{g}/\text{mm}^3$. *Not available for this tissue.



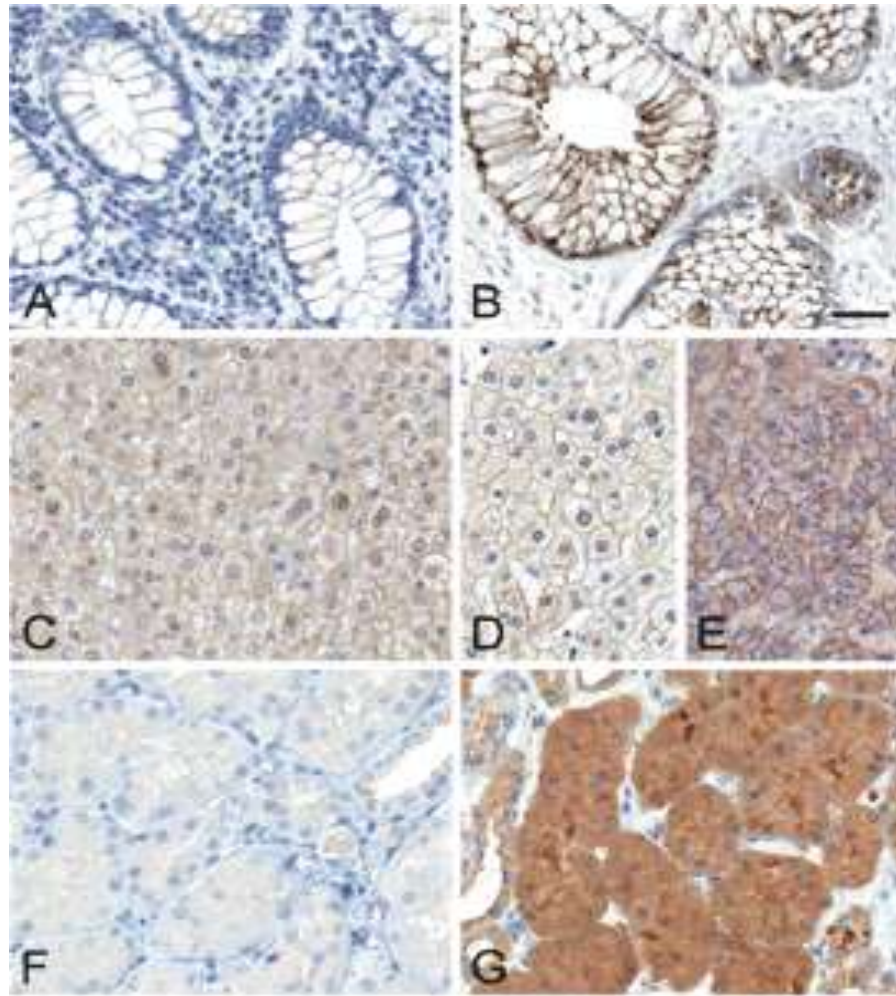
The Impact of Tissue Fixatives on Morphology and Antibody-based Protein Profiling in Tissues and Cells. L Paavilainen et al.

Journal of Histochemistry and Cytochemistry 58 (3): 237-246, 2010

The Impact of Tissue Fixatives on Morphology and Antibody-based Protein Profiling in Tissues and Cells.

L Paavilainen et al.

Journal of Histochemistry and Cytochemistry 58 (3): 237-246, 2010



Examples of discrepancies in immunohistochemistry staining between differently fixed tissues and cells. The left column represents NBF-fixed tissues or cells. **(A)** NBF-fixed intestinal tissue presented negative staining with an antibody to the opioid κ receptor, whereas ZBF-fixed intestinal tissue showed a dot-like granular protein expression **(B)**. **(C)** A subcellular staining discrepancy in liver, in which NBF-fixed liver tissue showed a cytoplasmic pattern. Liver tissues fixed with NEO-FIX **(D)** and Glyo-fixx **(E)** showed a membranous pattern, in accordance with the literature. An antibody to β -galactosyltransferase demonstrated very weak or negative staining in NBF-fixed tubular cells of the kidney **(F)**, whereas the same tissue type fixed in Glyo-fixx showed a strong granular-like cytoplasmic staining pattern **(G)**.

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

- FIJACIÓN QUÍMICA
- CONGELACIÓN
- INCLUSIÓN (Parafina, Epon)

Muestras en fresco. Congelación

1. Biopsias intraoperatorias

2. Histoquímica enzimática.

- **Biopsia rectal por succión.** Ache, NADH deshidrogenasa
- **Piezas de resección por enfermedad de Hirschsprung.** Ache, NADH deshidrogenasa
- **Biopsias musculares.** ATPasas, NADH deshidrogenasa, SDH deshidrogenasa, Mioadenilatodeaminasa, Fosforilasa, Fosfofructoquinasa3.

3. Inmunofluorescencia

- **Biopsias de piel. – Biopsias de riñón.**

4. Muestras para algunas técnicas moleculares (ARN)

5. Muestras para Banco de tumores

Congelación. Metodología

- **El nitrógeno líquido**, tiene una temperatura de -190°C / 85°K . Su manejo requiere precaución y se utilizan gafas y guantes para extraerlo de la bombona a través de un dispensador.
- Para que tras la congelación la morfología quede bien conservada y no se formen cristales gruesos de congelación del agua intracelular, **la congelación tiene que ser rápida.**



Congelación. Metodología. Preparación de las muestras

- **Nitrógeno líquido (-190°C)**
 - No es aconsejable realizar una inmersión directa en él, ya que se forman gases de nitrógeno alrededor de la muestra que enlentece el proceso de congelación y se pueden formar cristales gruesos en el interior de la célula, que distorsionan la morfología.
 - Se obtiene una congelación más rápida y mejor morfología congelando en metilbutano (isopentano), previamente congelado en nitrógeno líquido.
 - Otra opción es espolvorear la muestra en polvo talco, previamente a su inmersión en nitrógeno líquido.



• CONGELADOR CON SISTEMA DE SEGURIDAD:

- ALARMA LOCAL
- ALARMA TELEFÓNICA
- APOORTE DE CO₂
- GRUPO ELECTROGÉNICO INDEPENDIENTE
- CANDADO CONVENCIONAL 

CONTENEDOR DE NITRÓGENO LÍQUIDO

VÁLVULAS DE APERTURA/CIERRE

LLENADO CON DISPENSADOR

GUANTES PROTECTORES

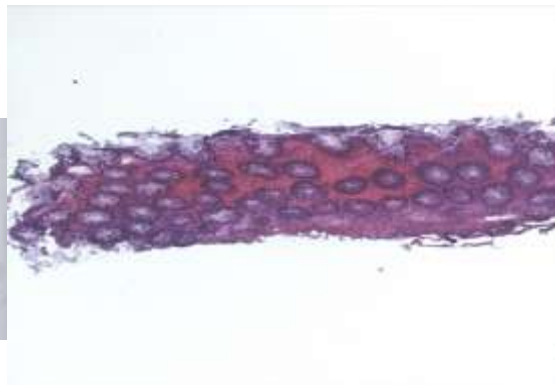
GAFAS PROTECTORAS



***Diagnóstico anatomopatológico en la biopsia rectal por succión.
Enfermedad de Hirschsprung.
¿ Por qué hacer enzimas?***

La demostración del aganglionismo es la clave que sustenta el diagnóstico

¿ En qué material lo demostramos?



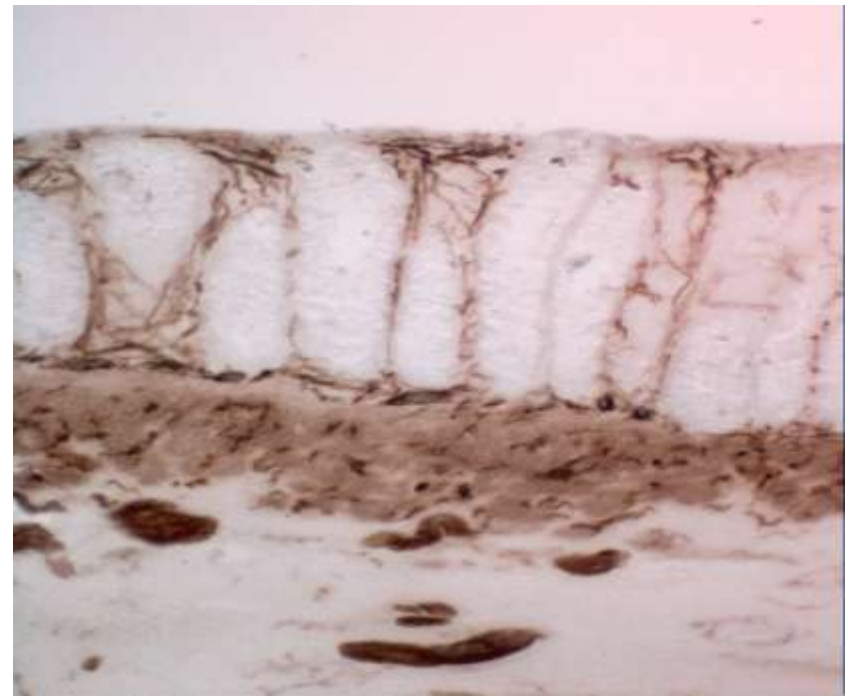
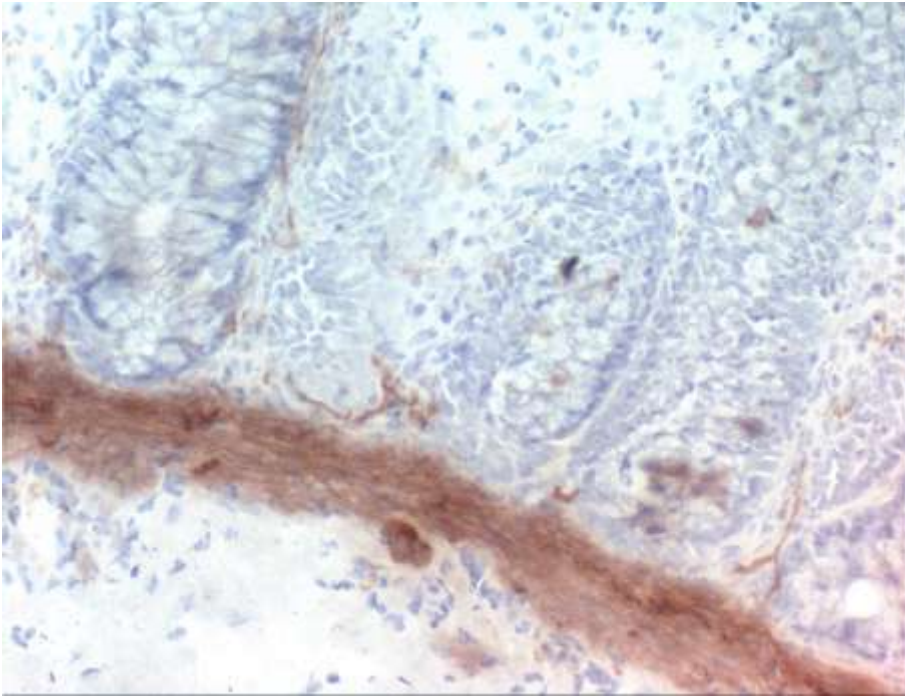
- Noblett HR. A rectal suction biopsy tube for use in the diagnosis of Hirschsprung's disease. J Pediatr Surg. 1969 Aug;4(4):406–409

ENFERMEDAD DE HIRSCHSPRUNG

Diagnóstico anatomopatológico

Aplicación de la demostración de acetilcolinesterasa al estudio de la biopsia rectal por succión

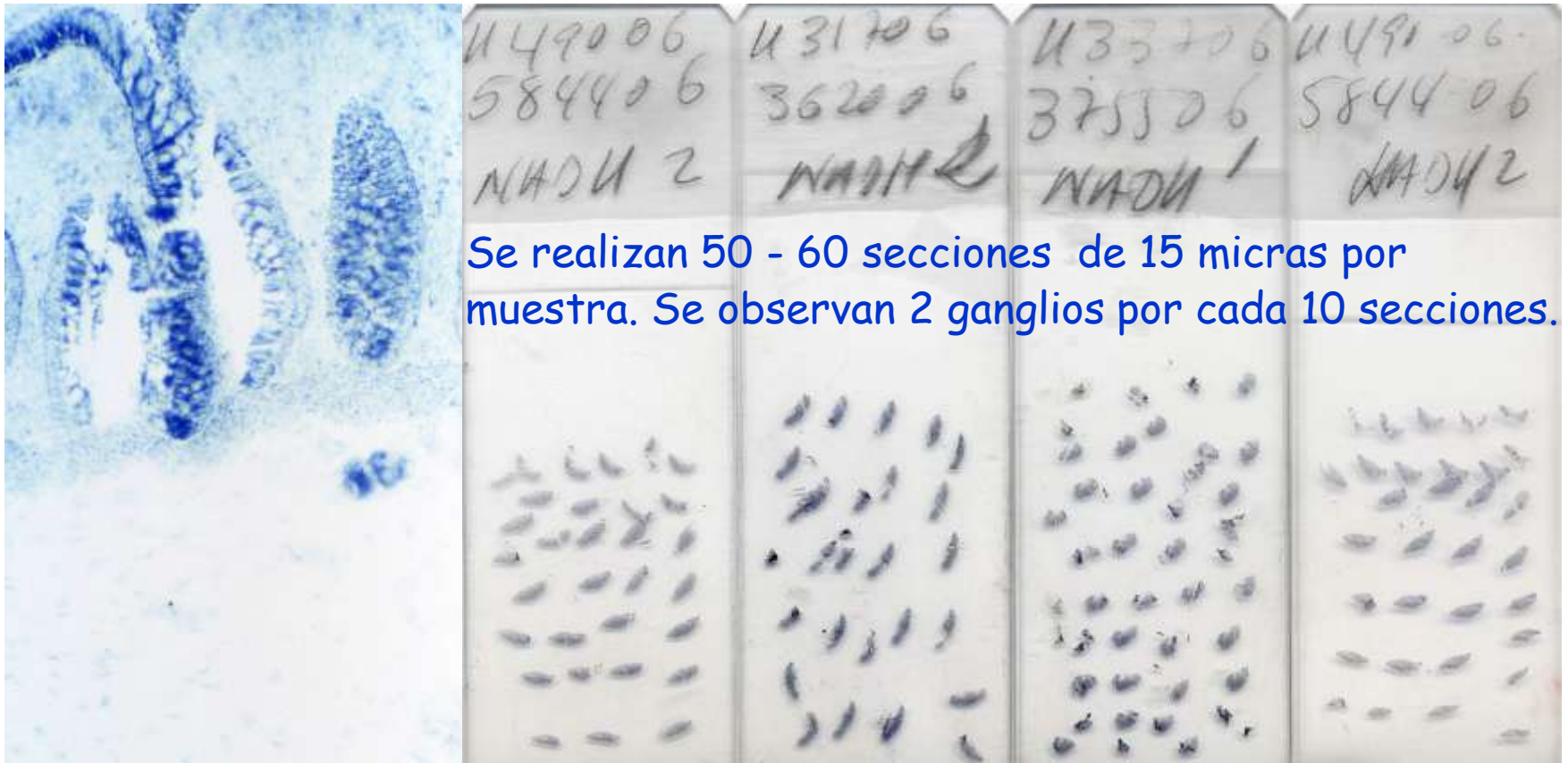
En el segmento agangliónico de la enfermedad de Hirschsprung hay una hiperplasia colinérgica proveniente del parasimpático sacro extramural que demostramos con la técnica de acetilcolinesterasa



ENFERMEDAD DE HIRSCHSPRUNG

Diagnóstico anatomopatológico

Aplicación de la demostración enzimática de NADH diaforasa al estudio de la biopsia rectal por succión





Muestras en fresco

CONGELACIÓN



HERRAMIENTA FUNDAMENTAL PARA LA
INVESTIGACIÓN EN ONCOLOGÍA



PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

- FIJACIÓN
- CONGELACIÓN
- INCLUSIÓN

Procesado posterior a la fijación previo a la inclusión en parafina

- Tallado de las muestras. Es crítico hacer correctamente la toma de tejidos.
- Inclusión en cassetes y a continuación introducirlos en los procesadores automáticos.

¿Qué es lo que se está realizando de forma automática en los procesadores?

INCLUSIÓN EN PARAFINA O PLÁSTICOS.

En los procesadores automáticos se realiza:

1. Deshidratación, a través de una serie de alcoholes (etanol) de graduación ascendente.
2. Disolvente de las grasas (xileno, benceno, tolueno, etc.
3. Baños de parafina (59-60°)

Razones de por qué hay que dar estos pasos

INCLUSIÓN EN PARAFINA O PLÁSTICOS.

La deshidratación de los tejidos tiene dos finalidades

- Un endurecimiento de las muestras
- Extraer el agua del interior de las muestras para que la parafina ó las resinas (epon), que no son miscibles con el agua, puedan penetrar posteriormente en el proceso de **inclusión**.

Disolvente de las grasas (xileno, benceno, tolueno)

- Eliminar el alcohol residual y las grasas

Baños de parafina (59-60°)

- Preparar el tejido para **la inclusión**

INCLUSIÓN EN PARAFINA O PLÁSTICOS.

- **La inclusión** consiste en impregnar los tejidos en una sustancia líquida, que penetre en el interior de la muestra y ocupe los lugares del agua extraída, y posteriormente pase a un estado sólido

Razones de por qué hay que dar este paso

- Este procedimiento se realiza para que las muestras adquieran una dureza determinada y una estabilidad homogénea y **así poder obtener cortes finos y uniformes para poderlos estudiar con el microscopio óptico o electrónico.**

INCLUSIÓN EN PARAFINA O PLÁSTICOS.

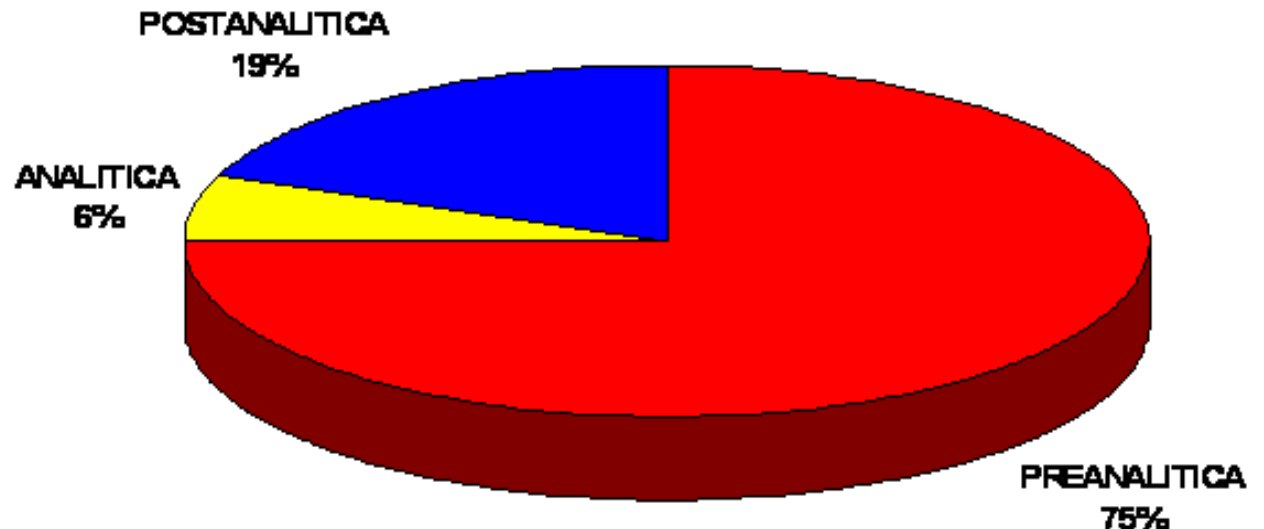
- **Parafina.** Como medio de inclusión la parafina es la sustancia más utilizada. Es una cera que tiene un punto de fusión entre 45° y 60° C y que solidifica a temperatura ambiente. **Permite secciones de 3-5 micras para estudio con microscopio óptico**
- **Plásticos (epon).** La inclusión en resinas acrílicas se basa en la polimerización de una sustancia de bajo peso molecular y su transformación en un producto transparente y sólido de mayor dureza que la parafina. Debido a la dureza de los bloques así obtenidos **es posible realizar cortes de 50Å** con cuchillas de vidrio para estudio con microscopio electrónico

OBJETIVOS DE CALIDAD

FASE PREANALÍTICA

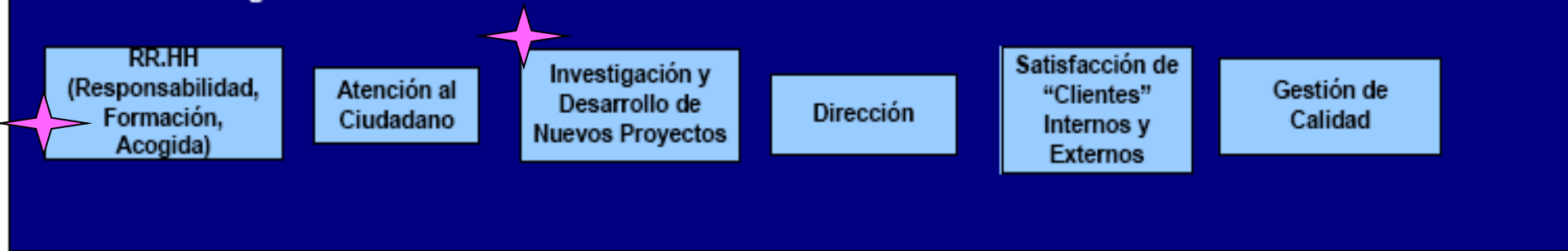
- FIJACIÓN Y PROCESADO DE LA MUESTRA

ERRORES

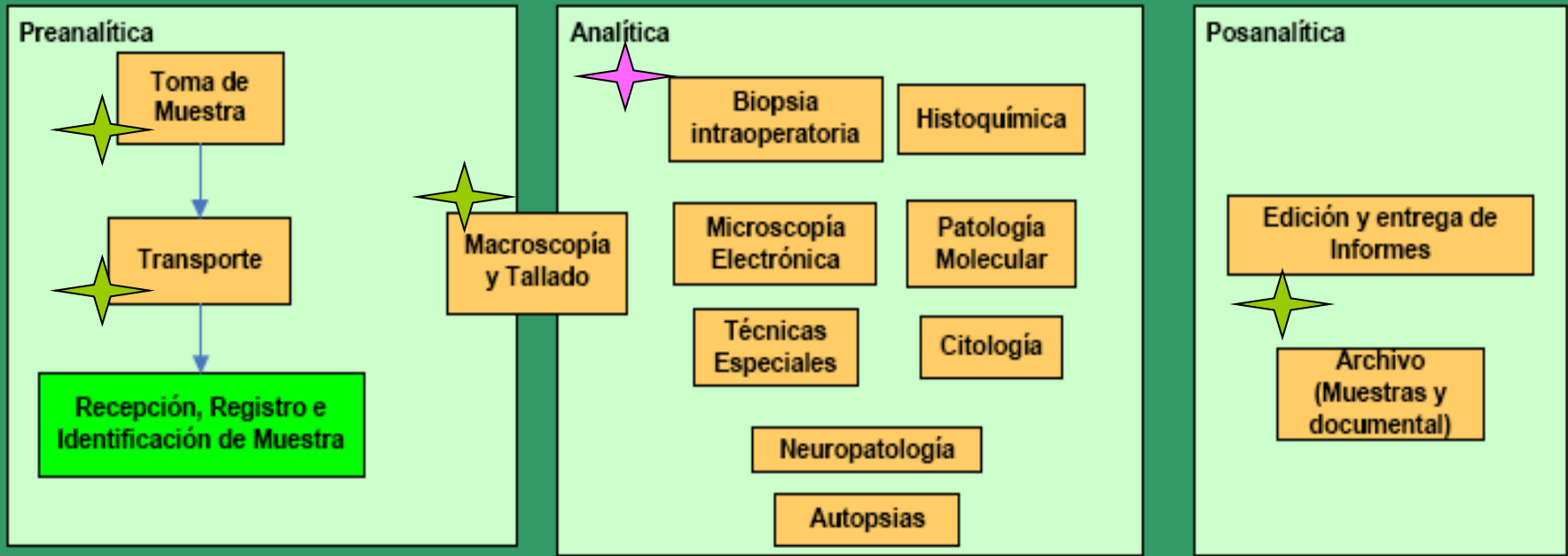


El mayor obstáculo para tener una estandarización es la variabilidad debida a la fijación y procesado

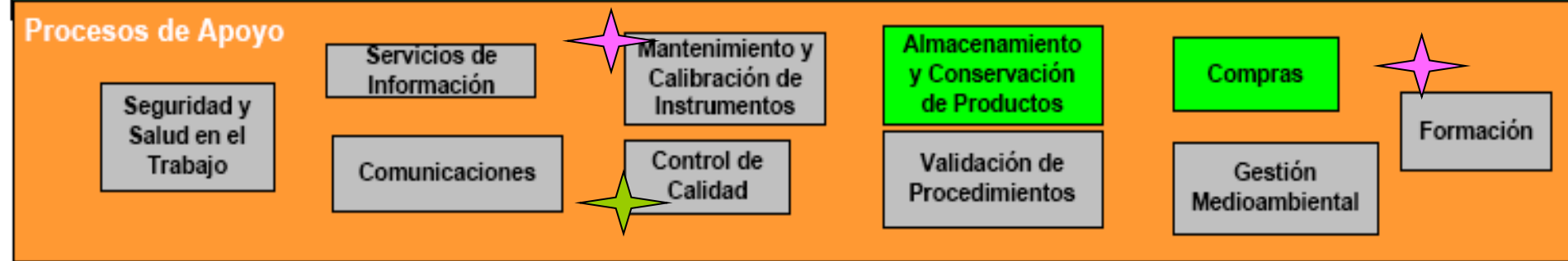
Procesos Estratégicos



Procesos Operativos



Procesos de Apoyo





ÁREAS DE MEJORA

- ¿Estamos haciendo lo que debemos hacer?
- ¿Estamos consiguiendo los resultados esperados?
- ¿Lo conseguimos en tiempo y costes aceptables?
- ¿Cómo asegurar que lo hacemos con un nivel de calidad correcto?

Hacer las cosas
precisas

Saber cómo
las hacemos

ENVIO DE MUESTRAS ULTIMA VERSIÓN

ArchivoEdiciónVerFavoritosHerramientasAyuda

AtrásBúsquedaCarpetas

DirecciónENVIO DE MUESTRAS ULTIMA VERSIÓN

ENVIO DE MUESTRAS ULTIMA VERSION

Seleccione un elemento para ver su contenido.

Vea también:
[Mis documentos](#)
[Mis sitios de red](#)
[Mi PC](#)

ENVIO DE BIOPSIAS DE NERVIOS PERIFERICOS 2.doc

ENVIO DE BIOPSIAS MUSCULARES 2.doc

ENVIO DE BIOPSIAS Y PIEZAS QUIRÚRGICAS Y OTRAS. doc

ENVIO DE LAS MUESTRAS PARA CITOLOGIA CERVICOVAGINAL Y OTRAS. doc

ENVIO DE MUESTRAS A MICROSCOPIA ELECTRÓNICA 2.doc

ENVÍO DE MUESTRAS DE PIEL PARA ESTUDIO DE INMUNOF

ENVIO DE MUESTRAS DE RIÑÓN PARA ESTUDIO DE INMUNOF

ENVIO DE PIEZAS DE RESECCIÓN. E. de Hirschspung 2.doc

ENVIO DE SOLICITUD DE AUTOPSIA .doc

hvr-AR-Doc-AP-IT-000006-001 Preparación y Envío de Biopsias Intraoperatorias .doc

hvr-AR-Doc-AP-IT-000009-001 Preparación y Envío de Biopsias Rectales por Succión.doc

hvr-AR-Doc-AP-IT-000014-001 Preparación y Envío de Muestras en fresco para Patología Molecular.doc

hvr-AR-Doc-AP-IT-000015-001 Preparación y Envío de Muestras al Banco de Tumores 23-04-2010.doc

hvr-AR-Doc-AP-IT-000016-001 Preparación y Envío de Muestras Líquidas para Citologías.doc

hvr-AR-Doc-AP-IT-000017-001 Obtención Preparación y Envío de Punciones Aspirado con Aguja Fina (PAAF).doc

Tipo: Archivo

Autor: mdseguraa

Título: PREPARACIÓN Y ENVIO DE BIOPSIAS Y PIEZAS QUIRÚRGICAS

Tamaño: 4,59 MB

La recomendación es normalizar, protocolizar

15 objeto(s)

40,9 MB

Mi PC

Inicio

Bandeja de en...

SESIONES

Sesion Calidad...

SESION CALI...

SESION CALI...

Ayuda de Micr...

ENVIO DE MU...

11:00

PNT. ENVIO DE BIOPSIAS INTRAOPERATORIAS

- PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

La muestra tras su extracción debe envolverse en gasa, o paño, humedecida en suero fisiológico, para evitar que se seque, e introducirse en un envase o bote de tamaño adecuado a la pieza.

- ENVÍO DE LAS MUESTRAS

- 1. **Las muestras deben ser enviadas EN FRESCO** sin fijador alguno con la hoja de solicitud de estudio debidamente cumplimentada, donde se especifique la hora de la toma de la **biopsia**. Así mismo el número del teléfono de contacto y los datos de identificación del quirófano, a la Recepción de Muestras del servicio de Anatomía Patológica, ubicada en la puerta oeste del edificio (frente al Centro de Diagnóstico y Tratamiento).
- 2. El transporte de las muestras intraoperatorias hasta el servicio de Anatomía Patológica debe ser **inmediato** y corre a cargo del servicio peticionario.
- 3. El envase, debe estar identificado adhiriendo a la pared del mismo la etiqueta de Identificación del paciente
- 4. En caso de remitir más de una pieza del mismo paciente, se debe identificar por separado la localización de cada muestra.

FIJACIÓN. Fase preanalítica.

Cuestiones prácticas

La muestra hay que introducirla lo antes posible en el fijador. No depende directamente de nosotros, generalmente.

Actuaciones por parte del personal de la Unidad de Patología

- **Material hospitalario.**
Reuniones con los responsables de quirófanos
- **Material extrahospitalario.**
Reunión con responsables de distritos

ESTABLECIMIENTO DE UNA UNIDAD DE COMUNICACIÓN DEL SERVICIO

SALA DE MACROSCOPÍA Y TALLADO



FIJACIÓN. Cuestiones prácticas

La relación de volumen entre muestra a fijar y fijador debe ser de 1:20 como mínimo. Este punto lo podemos subsanar.

Añadir más volumen de fijador

La muestra a fijar no debe ser muy gruesa, pues de lo contrario las zonas centrales no se fijaran bien. **El formol fija en 24h una muestra de un grosor de 3-5 mm**. Este punto lo podemos subsanar

Apertura de piezas grandes y sólidas para permitir la penetración del fijador.

El tiempo de fijación es variable, dependiendo, fundamentalmente de las dimensiones de la muestra a fijar. Muestras pequeñas no más de 8 horas. Muestras grandes no más de 24 horas. **Depende de nosotros**

En el tallaje de la pieza, tener en cuenta aquellas muestras que van a llevar estudio inmunohistoquímico y tomar cortes de zonas bien fijadas, no excesivamente grandes, para prevenir problemas posteriores. Ej. Piezas con cáncer de mama y de colon.



Dr. Claudio Montero