



¿QUÉ SUCEDE CON TU MUESTRA?

GUÍA DEL PROCESO HISTOPATOLÓGICO



**LABORATORIO
DE PATOLOGÍA**

CONTENIDO

+ Glosario	1
+ Recepción del tejido	5
+ Fijación del tejido	6
+ Isquemia de la muestra	7
+ Registro en sistema interno	8
+ Exámen macroscópico	9
+ Descalcificación de tejido	11
+ Proceso de inclusión en parafina	14
+ Bloqueo en parafina	17
+ Corte en el micrótomom	20
+ Desparafinado	22
+ Tinción de rutina (Hematoxilina y Eosina)	23
+ Montaje	25
+ Exámen microscópico	26
+ Tinciones histoquímicas	27
+ Inmunohistoquímica	30
+ ¿Como se interpreta una tinción IHQ?	31
+ Referencias	32

Glosario

Anticuerpo

Proteínas sintetizadas por células del sistema inmune.

Antígeno

Cualquier sustancia (como una proteína o toxina) que el sistema inmunitario reconoce como extraña o potencialmente peligrosa.

Artefacto

Alteración artificial producida durante el procesamiento de la muestra que puede dificultar su interpretación.

Biopsia

Extracción de una pequeña porción de tejido para analizarla al microscopio y ayudar al diagnóstico de una enfermedad.

Biopsia excisional

Se extirpa la lesión o nódulo completo, a menudo con un pequeño borde de tejido sano alrededor (margen).

Biopsia incisional

Se extrae solo un fragmento o "pedazo" de la lesión junto con algo de tejido sano.

Casete de inclusión

Pequeño contenedor donde se colocan los fragmentos de tejido para su procesamiento.

Citología

Estudio de células obtenidas de líquidos o secreciones corporales.

Citospray

Solución en aerosol utilizada en laboratorios para preservar muestras celulares.

Descalcificación

Proceso mediante el cual los huesos pierden calcio, el mineral que les otorga dureza y estructura, volviéndolos más porosos y suaves para poder cortarlos.

Efusión

Acumulación anormal de líquidos corporales en un espacio o cavidad cerrada, como la pleura (efusión pleural) o el pericardio (efusión pericárdica).

Espécimen

Muestra de tejido, órgano o líquido obtenida del paciente para su estudio en el laboratorio.

Glosario

Esputo

Secreción mucosa espesa producida en los pulmones y vías respiratorias inferiores que se expulsa al toser.

Fijación

Proceso en el que la muestra se conserva con sustancias químicas para evitar su deterioro.

Formol bufferado

Solución utilizada para preservar tejidos y mantener sus estructuras celulares.

Fase pre-analítica

Abarca todos los procesos previos al análisis de laboratorio: desde la solicitud médica y preparación del paciente, hasta la recolección, transporte y preparación de la muestra.

Fase analítica

Es el conjunto de procedimientos técnicos realizados dentro del laboratorio que consisten en el procesamiento, medición y análisis de una muestra biológica.

Histopatología

Estudio microscópico de tejidos y órganos para identificar enfermedades.

Histoquímica

Reacciones químicas y métodos de microscopía para identificar, localizar y cuantificar moléculas específicas en un tejido.

Inmunohistoquímica (IHQ)

Técnica que identifica proteínas específicas en el tejido para ayudar al diagnóstico y tratamiento.

Irrigación sanguínea

Proceso por el cual la sangre oxigenada y rica en nutrientes llega a todos los tejidos y órganos del cuerpo.

Isquemia

Periodo en el que el tejido deja de recibir oxígeno y nutrientes después de ser extraído o durante cirugía.

Margen quirúrgico

Borde del tejido retirado durante una cirugía que se evalúa para determinar si una lesión fue eliminada por completo.

Morfología celular

Forma, tamaño y características de las células.

Glosario

Morfología tisular

Es la rama de la biología y la medicina que estudia la estructura, forma y organización de los tejidos biológicos.

Necrosis

Muerte de células o tejidos debido a daño o falta de irrigación sanguínea.

Neoplasia

Crecimiento anormal de células que puede ser benigno o maligno.

Laminilla

Lámina de vidrio donde se coloca el tejido para ser observado al microscopio.

Oncológico

Relacionado con el estudio, diagnóstico o tratamiento del cáncer.

Papanicolaou convencional

Prueba ginecológica donde se recolectan células del cuello uterino con una espátula y un cepillo, y se extienden directamente sobre una placa de vidrio.

Parafina

Sustancia sólida utilizada para dar soporte al tejido y permitir realizar cortes muy delgados.

Patólogo

Médico especialista en el diagnóstico de enfermedades mediante el análisis de células, tejidos y líquidos corporales (como biopsias o citologías).

PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa)

Es una técnica de biología molecular que crea millones de copias de un segmento de ADN específico.

Pieza quirúrgica

Tejido u órgano retirado parcial o totalmente durante una cirugía para su evaluación histopatológica.

Secreción

Producción y liberación de sustancias (como líquidos, moco o enzimas) por parte de células o glándulas del cuerpo.

Secuenciación

Es una técnica de laboratorio utilizada para descifrar el orden exacto de los nucleótidos (A, T, C, G) que componen el ADN.

Glosario

Sustrato cromogénico

Molécula sintética e incolora diseñada para ser degradada por una enzima específica, que al interactuar con dicha enzima, libera un grupo químico coloreado (cromóforo) que permite identificar y cuantificar la presencia de dicha enzima.

Tejido

Conjunto organizado de células similares que trabajan en conjunto para cumplir una función específica en el cuerpo de un ser vivo.

Tisular

Adjetivo utilizado para hacer referencia a todo aquello perteneciente o relativo a los tejidos orgánicos de plantas o animales.

Tinción

Es una técnica de laboratorio que consiste en aplicar colorantes a células o tejidos.

Transoperatorio

Estudio realizado durante una cirugía para proporcionar información rápida al cirujano.

Volátil

Describe algo inestable que cambia, desaparece o se evapora con rapidez.

Recepción

La recepción de la muestra es una etapa crítica dentro del procesamiento histológico, ya que de ella depende la correcta identificación del paciente, la integridad del espécimen y la calidad del diagnóstico final emitido por el patólogo.

Cada muestra debe estar acompañada de una solicitud llenada con la siguiente información:

- Nombre, edad y sexo del paciente
- Médico solicitante
- Especimen quirúrgico
- Fecha de la toma
- Teléfono y correo electrónico
- Datos clínicos



SOLICITUD DE ESTUDIO

DATOS DEL PACIENTE

Nombre del paciente: _____ Edad: _____ Sexo: _____
Médico solicitante: _____ No. de Expediente: _____
Especimen quirúrgico: _____
Diagnóstico clínico: _____
Fecha de la toma: _____ Teléfono: _____ Correo Electrónico: _____
Método de pago: _____ Factura: _____ Fecha de recepción: _____ Recibe: _____

DATOS CLÍNICOS



El envase que contiene la muestra debe estar correctamente etiquetado y ser legible. La etiqueta debe incluir:

- Nombre y edad del paciente
- Fecha de la toma
- Especimen
- Médico



Es obligatorio verificar que los datos de la solicitud coincidan con la información de la etiqueta del recipiente.

Cualquier irregularidad debe resolverse antes de continuar con el procesamiento, ya que errores en la identificación pueden comprometer el diagnóstico y la seguridad del paciente.

Fijación

Las muestras deben recibirse en el medio de fijación adecuado según el tipo de espécimen quirúrgico.

Una fijación correcta es fundamental para preservar la morfología tisular y permitir una adecuada evaluación microscópica.

	Tipo de muestra	Fijador
Biopsias de tejido y órganos	Biopsia incisional, excisional, endoscópicas y órganos totales o parciales	Formol bufferado al 10%, la muestra debe estar cubierta completamente*
Citología de líquidos corporales no ginecológicos.	Orina Esputo Secreciones de seno Secreciones de quistes Aspirado, lavado y/o cepillado bronquial y biliar Aspirado por aguja fina (BAAF) Efusiones Citología anal, bucal y uretral	Líquidos en envase En alcohol al 96% en relación 1:1 con la muestra. Muestras en laminilla Serán fijadas con alcohol al 96% o fijador en aerosol*.
Ginecológicas	Papanicolau convencional Citología líquida	Muestras en envase con fijador a base de etanol Muestras en laminillas Será fijadas alcohol etílico al 96% sumergidas o con citospray
Transoperatorio	Muestras de tejido fresco	Sin fijador

NOTA:

*El formol y el alcohol son sustancias volátiles, es decir, se evaporan fácilmente. Por ello, si hay poca cantidad o el recipiente no está bien cerrado, pueden perder efectividad y afectar la conservación de la muestra.

Isquemia de la muestra: ¿qué ocurre antes de llegar al laboratorio?

Cuando se obtiene una biopsia o una muestra de tejido, esta deja de recibir oxígeno y nutrientes porque ya no tiene circulación sanguínea. A este proceso se le conoce como **isquemia** (Bussolati et al., 2011).

Fases de la isquemia:

Isquemia caliente

Periodo en el que el tejido permanece dentro del cuerpo sin irrigación sanguínea, generalmente durante cirugía y a ~37 °C, antes de ser extraído. Durante este periodo las células no reciben oxígeno ni nutrientes.

Isquemia fría

Inicia cuando el tejido es extraído del cuerpo y permanece a temperatura ambiente o refrigeración, hasta ser colocado en el fijador. Mientras más tiempo pase sin fijarse, mayor será el daño celular (BMC Surgery, 2024).

¿Cómo afecta a las células?

Cuando un tejido permanece más de 15 minutos* sin fijarse después de su extracción, las células comienzan a degradarse. Esto puede provocar:

- Pérdida de detalles celulares
- Alteraciones en la forma y estructura del tejido
- Ruptura de células
- Aparición de artefactos o cambios artificiales

Estos cambios pueden dificultar la interpretación de la muestra (Rastogi et al., 2013).

La isquemia también puede **degradar proteínas** importantes del tejido debido a su sensibilidad a los cambios de temperatura y pH. Esto puede afectar estudios de inmunohistoquímica (IHQ) y pruebas de biología molecular, como PCR o secuenciación, ocasionando falsos negativos y poco confiables. La conservación adecuada de estas proteínas es fundamental, ya que algunas se utilizan para identificar enfermedades, seleccionar tratamientos dirigidos en pacientes con cáncer o detectar microorganismos causantes de infecciones como la tuberculosis (Becette et al., 2014; Bass et al., 2014)

NOTA:

*El **tiempo de isquemia depende del tipo de tejido**, ya que algunos son más lábiles que otros. Ej. Las mucosas y el cerebro son tejidos altamente lábiles que sufren cambios autolíticos irreversibles en menos de **10 minutos sin fijador**.

¡CUIDA LA MUESTRA, CUIDA AL PACIENTE!

GUÍA RÁPIDA PARA EL MANEJO DE MUESTRAS PATOLÓGICAS
El diagnóstico preciso depende de TI. Un tejido mal preservado
es un diagnóstico perdido. **¡Cada minuto cuenta!**

⚠ ¡RECUERDA SIEMPRE! ⚠

SI ES TEJIDO (biopsia o pieza)

REGLA DE ORO:

Fijación INMEDIATA en FORMOL

- ✓ El formol debe cubrir **100% la pieza**
(Relación **10:1**)
- ✓ **¡Nunca uses agua destilada o solución salina!**



SI ES LÍQUIDO (Citologías, líquido pleural, ascitis, etc.)

REGLA DE ORO:

Fijación INMEDIATA en ALCOHOL

- ✓ Mezcla **1:1** con alcohol al **70% o 96%**

La fijación debe ser en los primeros

5-10 MINUTOS



ROTULADO

- ✓ **Nombre, fecha, tipo de muestra**



¡TIEMPO CRÍTICO!

- ✓ **¡Cada minuto cuenta!**



SIN FIJAR = SIN DIAGNÓSTICO

- ✓ Podría requerir otra cirugía.

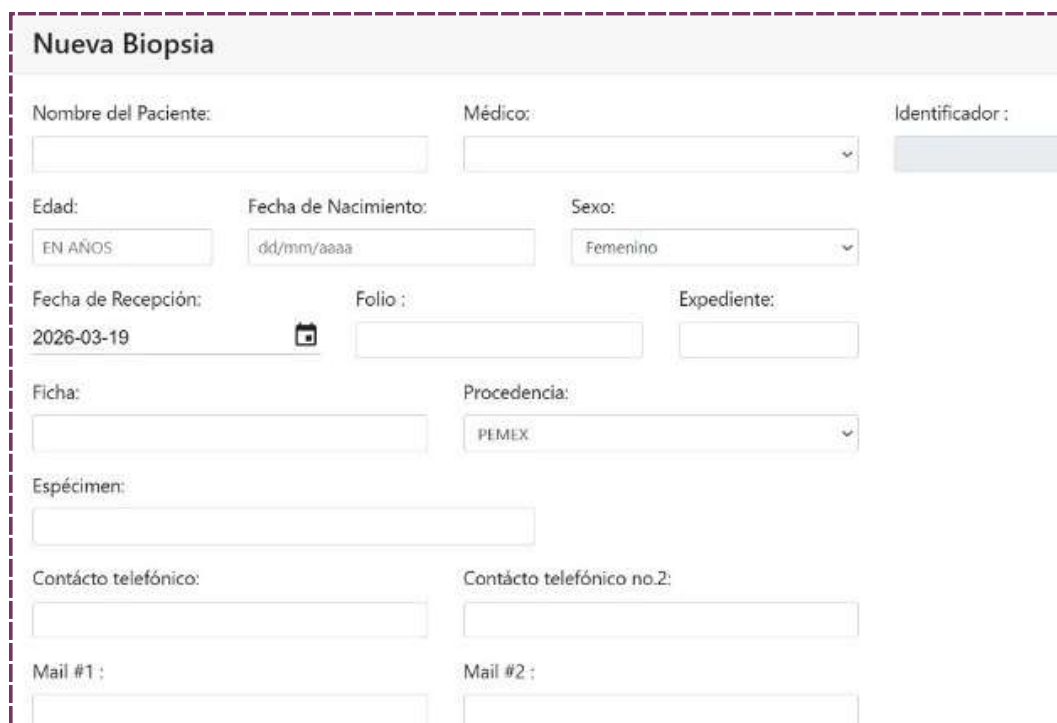


NOTA:

Esto aplica únicamente para muestras destinadas a **laboratorio de patología**. Si la muestra requiere pruebas citoquímicas, microbiológicas u otros análisis, el manejo y el medio de transporte es diferente, por lo que se recomienda consultar antes con el **laboratorio clínico**.

Registro en el sistema interno

Después de que se recibe el espécimen, este se tiene que registrar en el sistema del laboratorio, este proceso consiste en capturar tal y como dice la solicitud, Identificación del paciente, detalles del espécimen, datos clínicos, médico tratante, fecha de toma de muestra y fecha de recepción en el laboratorio.



Formulario de registro de nueva biopsia:

Nueva Biopsia

Nombre del Paciente: Médico: Identificador:

Edad: Fecha de Nacimiento: Sexo:

EN AÑOS dd/mm/aaaa Femenino

Fecha de Recepción: Folio: Expediente:

2026-03-19

Ficha: Procedencia:

PEMEX

Espécimen:

Contácto telefónico: Contácto telefónico no.2:

Mail #1: Mail #2:

Una vez validado y guardado en el sistema, éste generará automáticamente un identificador en la bitácora electrónica, asegurando el seguimiento del espécimen.

Examen macroscópico

Para el examen macroscópico de la muestra, es necesario el confirmar que la pieza quirúrgica este correctamente identificada, incluyendo su lateralidad y el procedimiento realizado, dichos datos se encuentran en la solicitud.

El examen macroscópico dependerá de dos aspectos de la muestra:

Tamaño: Órganos completos o piezas grandes, requieren un mayor tiempo en formol buffereado (fijador), para evitar la isquemia fría y conservar mejor la estructura celular, además de que algunos órganos requieren de una disección previa, para que el fijador pueda penetrar más rápido (útero)(Alberto, 2010).

Tipo: Algunos tejidos presentan una mayor dificultad en su fijación, esto debido a una alta densidad celular (riñón, hígado, útero), la cantidad de tejido adiposo presente en este (piel, mama) o por un procedimiento previo como una descalcificación (hueso) (Buesa & Peshkov, 2012, Prentø & Lyon, 1997).

Los criterios generales que evalúa el examen macroscópico para las biopsias y órganos completos sin un Diagnóstico NO oncológico son: **peso, color, apariencia (interna y externa) y medición completa en tres dimensiones (largo, ancho, alto)**, además de una descripción detallada de la pieza completa, resaltando las anomalías presentes en la misma (pigmentos anormales, inflamación, lesiones vasculares, hipertrofia o hiperplasia) (Varma et al., 2023).

Penetración del formol en el tejido

El tiempo promedio con el que el formol difunde por los tejidos de de aproximadamente de **1 mm/hora** que aumentará gradualmente con el tiempo, recomendándose un tiempo de fijación de piezas grandes es entre 12-24 horas (Rolls, 2012)



Representación de la difusión del fijador (azul) en las diferentes capas de un tejido.

Tejido en proceso de fijación

El tejido está crudo, sin fijar.
Es necesario realizar cortes para que el formol pueda penetrar adecuadamente



Después de 24 horas en formol

El tejido ya está fijado.
El formol ha penetrado adecuadamente y el tejido está listo para el siguiente paso del proceso.



No se puede procesar en estas condiciones, el formol no ha penetrado lo suficiente.



Listo para procesar, el tejido está fijado y en condiciones óptimas.

Descalcificación de tejidos

Es una técnica que consiste en **eliminar los minerales del hueso u otro tejido (calcificado)** para poder obtener cortes en parafina de buena calidad, preservando todos los elementos microscópicos esenciales (Rolls, 2013).

Antes del proceso de descalcificación, el tejido óseo debe estar **completamente fijado** para conservar su morfología tisular (elementos celulares y fibrosos del hueso), del daño causado por los ácidos utilizados como agentes descalcificadores (Callis, 2008, Decalcification | Gross Pathology Manual, s. f.).

Existen tres tipos de descalcificadores principales: los **ácidos fuertes** (HCl 5-10%), los **ácidos débiles** (Ácido fórmico 10%) y los **quelantes** (EDTA 10-14%), cada uno con ventajas y desventajas.

- **Ácido clorhídrico (5-10%):** Descalcificación rápida (**1-3 días**), pero daña el tejido (hinchazón tisular), **desnaturaliza proteínas y ácidos nucleicos**.
- **Ácido fórmico (10%):** Descalcificación más lenta pero menos agresiva con el tejido (**3-8 días**), aunque con una **exposición prolongada** tiene los mismos efectos que un **ácido fuerte**, suele combinarse con formol bufferado para mitigar este riesgo.
- **EDTA (10-14%):** Descalcificación lenta (**7-21 días**), mantiene integra la estructura proteica y los ácidos nucleicos. No se recomienda para casos urgentes debido a su lentitud.

NOTA: El tiempo en el que debe estar sumergido el tejido en el descalcificador varía de acuerdo con el tamaño (piezas pequeñas requieren menos tiempo <0.5 cm), grado de mineralización, técnicas de tinción. Teniendo un **tiempo promedio de 3-21 días**.



El **EDTA** solo se une a los iones metálicos (Ca^{2+}) de la superficie del cristal de apatita, reduciendo este último gradualmente entre más tiempo de contacto.

Proceso del examen macroscópico



01 Pesaje

Pesaje inicial de la pieza completa, evaluación de sus características físicas

Medición 02

Medición de las tres dimensiones de la pieza (largo, ancho y alto)



03 Corte

Corte longitudinal, para iniciar con el protocolo de mapeo y corte, específico para el órgano.



04 Fotografía

Fotografía de los componentes tisulares internos del órgano.

Medición interna 05

Mapeo de los componentes internos del órgano y captura de datos.



06 Protocolo de muestreo

Corte del órgano, en base a protocolos de muestreo, y llenado de casetes de inclusión.

Casetes en formol 07

Reposo de los casetes en formol para el siguiente proceso de inclusión



Inclusión en parafina

Consiste en remplazar el agua y los lípidos del tejido por parafina sólida, proporcionando la consistencia necesaria para poder cortarlo en laminas extremadamente finas, este procedimiento se puede hacer de forma manual o automatizada en un procesador de tejidos (Histoquinet) (Rolls, 2019, Pombal, s. f.).

Histoquinet (Procesador de tejidos)

Este es un equipo automatizado que realiza las etapas de **deshidratación, aclaramiento e infiltración de forma programada**. Un procesador puede completar todo este ciclo de forma autónoma, normalmente durante la noche, dejando las muestras listas para la inclusión en bloque a la mañana siguiente.

Paso	Reactivo	Tiempo (horas/ c/u)
1	Formol bufferado al 10%	1-4
2-5	Alcohol 96%	1- 1:30
6-7	Alcohol absoluto	1- 1:30
8	Alcohol / Xilol	1
9-10	Xilol	1
11- 12	Parafina	1 (58- 60 °C)
Tiempo total: 13.5-16.5 horas		

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

Deshidratación: Eliminar el agua del tejido, remplazandola por alcohol.

Aclaramiento: Eliminar el alcohol y preparar el tejido para recibir la parafina.

► **Infiltración:** Reemplazar el agente aclarante por parafina líquida.



Proceso de inclusión en parafina



08 Acomodo de canastilla

Carga de la canastilla de aluminio con los casetes resguardados en formol.

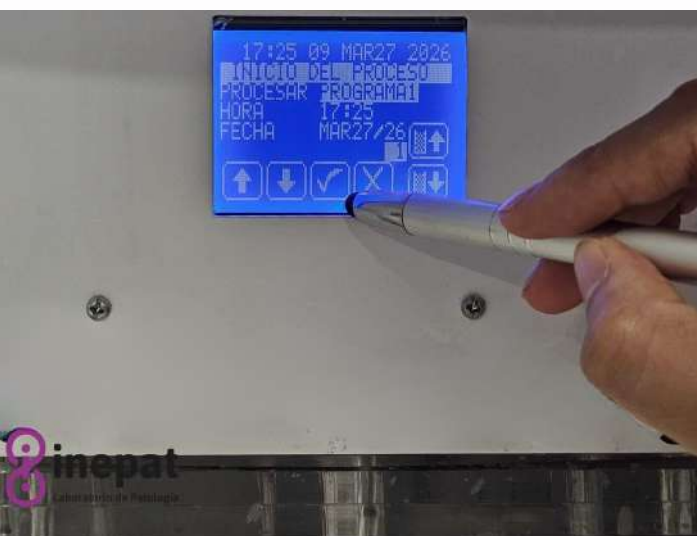
Encender equipo 09

Encender el equipo de procesamiento de tejidos



10 Inicio histoquinet

Colocar la canastilla al inicio del tren del equipo.



11 Programación

Programar el equipo e iniciar el proceso.

Fin del proceso 12

Terminado el proceso, retirar la canastilla del tren del equipo, y dejarla reposar en un recipiente con parafina caliente



Tiempo de fijación en formol (previa al Histoquinet)

12-24 horas

Tiempo en el procesador de tejidos (Histoquinet)

13.5-16.5 horas

Bloqueo en parafina

Este procedimiento consiste en la formación del bloque de parafina, que servirá como soporte del tejido durante el fase de corte en el microtomo. Para este proceso se requiere de un dispensador de parafina líquida, un mechero de gas o alcohol, moldes de acero inoxidable (platinas) y pinzas de acero inoxidable (Rolls, 2021) .

Durante la inclusión hay 3 aspectos que no se deben de perder de vista: colocación, orientación y bloqueo final.

Orientación

El tejido se acomoda, de acuerdo a las capas tisulares que se quieren ver.



Incrustación

Se introduce el tejido en el fondo de la platina, de una forma en la que se reduzca la tensión mecánica durante el corte.



Bloqueo

Se coloca encima el casete de plástico (que servirá como base) y se rellena con más parafina líquida.



ACOMODO DEL TEJIDO EN LA CHAROLA



CORTE MICROSCÓPICO Y VISUALIZACIÓN



ACOMODO PREVIO A LA INCLUSIÓN

MUESTRA DE PIEL

- CAPA SUPERFICIAL (EPIDERMIS)
- CAPA PROFUNDA (DERMIS)

MUESTRA DE TUBO DIGESTIVO

- LUZ (MUCOSA)
- SUPERFICIE EXTERNA (Serosa)

Acomodar el tejido plano para ver capas, o perpendicular para un corte transversal

ORIENTACIÓN CORRECTA: PIEL EN CAPAS

ORIENTACIÓN CORRECTA: INTESTINO TRANSVERSAL

ORIENTACIÓN INCORRECTA

Portaobjetos final

4µm

Epidermis
Dermis

Scale bar: 100 µm

Scale bar: 100 µm

ORIENTACIÓN INCORRECTA

ORIENTACIÓN INCORRECTA

LA ORIENTACIÓN DETERMINA LAS CAPAS VISIBLES

Proceso bloqueo en parafina



Elegir platina

Abrir el casete con el tejido y escoger una charola de acero, lo suficientemente grande para que el tejido entre adecuadamente.

14 Llenar con parafina

En la misma charola de acero, depositar un poco de parafina caliente





15 Acomodar en platina

Con ayuda de unas pinzas, colocar el tejido dentro de la charola con parafina, orientándolo adecuadamente.

16 Bloque

Colocar la parte rígida del casete, encima de la charola de acero, con el objetivo de formar el bloque de parafina

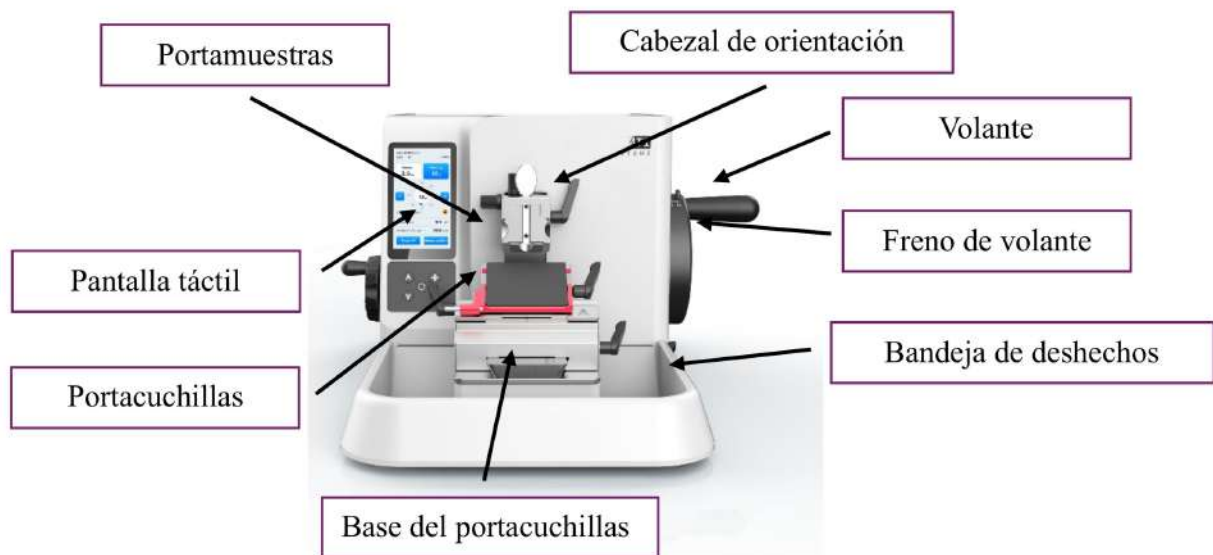


17 Plancha fría

Después del bloqueo, los bloques se pasan a una plancha fría, que normalmente tiene una temperatura -6 a -10°C , con el fin de solidificar la parafina.

18. Corte en micrótopomo

Un micrótopomo es un instrumento de precisión utilizado en un laboratorio de patología para cortar muestras de tejidos biológicos en secciones extremadamente delgadas. (Spencer & Bancroft, 2008)



Primero, se toma el bloque de parafina y se sujeta en el portamuestras. Debes “desgastar” el bloque, es decir, girar el volante rápidamente para eliminar el exceso de parafina hasta que aparezca la superficie del tejido. En el laboratorio lo realizamos a 30 micras.





Se gira el volante con un movimiento constante. No puedes detenerte a mitad del giro ya que quedarán marcas en el corte. Al bajar el bloque contra la cuchilla se desprende una lámina. Este corte se hace 2.5 a 4 micras

Con mucho cuidado, se puede apoyar con un pincel fino o unas pinzas, despegas las cintas y las dejas flotar en el baño de flotación (agua tibia ~40°C). El calor estirará las arrugas del corte. Finalmente “pescas” la sección con un portaobjeto.



Se debe cuidar la temperatura del agua (40°C idealmente) si está muy alta o baja pueden generarse grietas en los cortes o romperlos. Por último, se colocan las laminillas en una canastilla listas para desparafinar.

19. Desparafinado

Los cortes montados en las laminillas contienen una gran cantidad de parafina, este debe ser eliminado.

Se logra sometiendo las laminillas a temperaturas altas de $\sim 100^{\circ}\text{C}$ por 20 minutos, con el fin de derretir la parafina y exponer exclusivamente el tejido. (Lema, 2019).



Pasado el tiempo de desparafinado se sumergen:

Xilol

**Alcohol
absoluto**

Alcohol 96°

Agua

El xilol actúa como agente aclarante para disolver y extraer residuos de parafina. El alcohol absoluto disuelve el aclarante. El agua retira los restos de alcoholes y que las laminillas estén listas para teñirse. (Lema, 2019).

20. Tinción de rutina

Hematoxilina- Eosina

La tinción de hematoxilina y eosina (H&E) es la técnica histológica de rutina más utilizada en el laboratorio, ya que permite evaluar de manera general la morfología de los tejidos y establecer un diagnóstico inicial.

La **hematoxilina** es un colorante básico que tiñe estructuras basófilas (ácidas), principalmente los núcleos, en tonos **azul-violeta**, mientras que la **eosina** es un colorante ácido que tiñe componentes **eosinófilos** (básicas) como el citoplasma y la matriz extracelular en tonalidades **rosadas** (Megías et al., s. f.).

Después del desparafinado e hidratación de las laminillas el siguiente paso es la tinción.



El corte se sumerge en hematoxilina de Harris durante 5 a 10 minutos, lo que permitirá **teñir los núcleos**. Posteriormente, se lava con agua potable filtrada para eliminar el exceso de colorante

Después se realiza la **diferenciación**, donde el corte se sumerge en alcohol ácido para quitar el exceso de hematoxilina y mejorar el contraste nuclear. Se vuelve a lavar con agua potable filtrada.

02



03

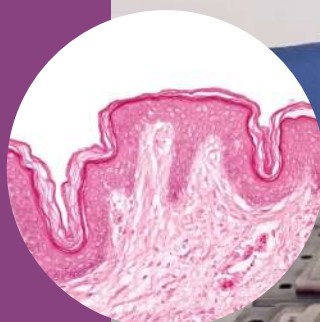


Carbonato de Litio

El siguiente paso es el **viraje**, donde el corte se sumerge de 1 a 3 veces en hidróxido de amonio al 1% o carbonato de litio, lo que permite que los núcleos adquieran un tono azul más definido. Después, nuevamente se lava con agua potable filtrada.

04

Posteriormente el tejido se sumerge en eosina durante 30 segundos a 2 minutos, lo que **teñirá el citoplasma** y otras estructuras en tonos rosados.



Finalmente, se realiza la **deshidratación** y **aclaramiento**, pasando el corte por alcohol al 96%, alcoholes absolutos, alcohol-xilol y xilol, con el objetivo de eliminar el agua y preparar la muestra para su montaje.

05



Tren de tinciones

21. Montaje

Las laminillas teñidas son cubiertas con un cubreobjetos, para su protección y conservación, con un adhesivo transparente y resistente, como lo es la resina sintética. (Lema M, 2019).

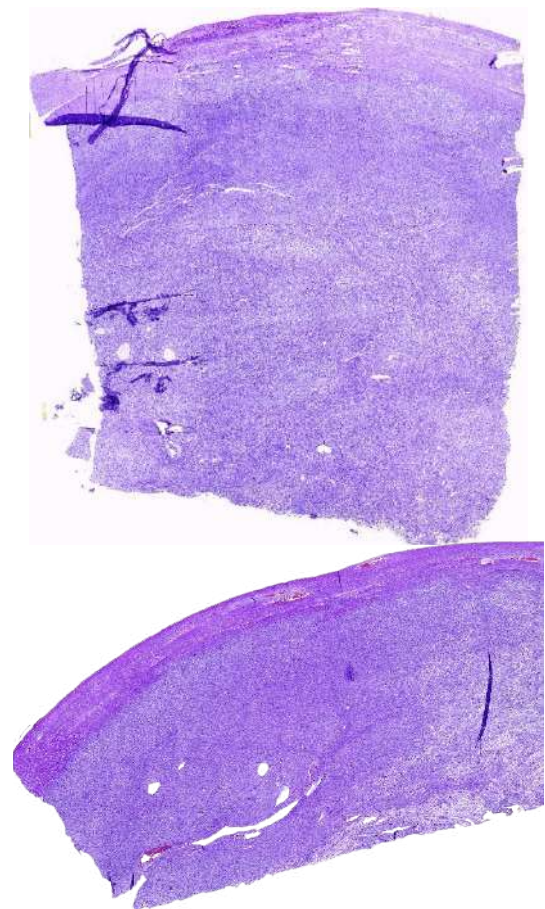
El cubreobjetos debe estar limpio y manipularse únicamente por los bordes para evitar contaminaciones o artefactos. La cantidad de resina utilizada durante el montaje puede variar según el tamaño del cubreobjetos, el área de tejido y las características del medio de montaje; sin embargo, en una laminilla histológica estándar suele emplearse aproximadamente una o dos gota de resina sintética (50–100 μL), suficiente para cubrir la sección de tejido. Una cantidad insuficiente puede dejar áreas sin protección, mientras que un exceso puede generar una capa gruesa o favorecer la formación de burbujas, dificultando la observación microscópica y la adecuada conservación de la muestra.



22. Examen microscópico

El patólogo observa las laminillas al microscopio, evaluando la arquitectura del tejido, morfología celular y la presencia de alteraciones como inflamación, necrosis o células neoplásicas. Este análisis se realiza de manera sistemática, comenzando con aumentos bajos para valorar la organización general del tejido y progresando a aumentos mayores para examinar detalles celulares específicos.

Con base en estos hallazgos, y en correlación con la información clínica del paciente, el patólogo emite un diagnóstico histopatológico, el cual puede complementarse con estudios adicionales si es necesario.

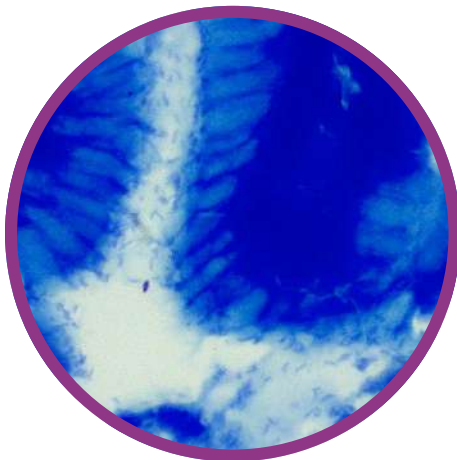


El tiempo requerido para la evaluación microscópica puede variar según la complejidad del caso. En estudios rutinarios, la revisión suele tomar entre 10 y 20 minutos por laminilla. Después, el patólogo analiza los hallazgos y redacta el informe diagnóstico, lo que puede requerir entre 15 y 30 minutos adicionales dependiendo de cada caso.

Tinciones histoquímicas

Las tinciones histoquímicas emplean colorantes específicos para demostrar la presencia de determinadas sustancias en los tejidos. Permiten identificar sustancias específicas dentro de las células y la matriz extracelular, facilitando el diagnóstico de diversas enfermedades (Kumar et al., 2021).

Se solicitan cuando existe sospecha de infección y permiten identificar agentes etiológicos en el tejido:



Giemsa

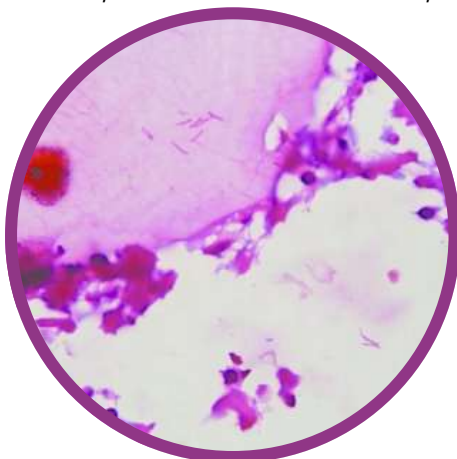
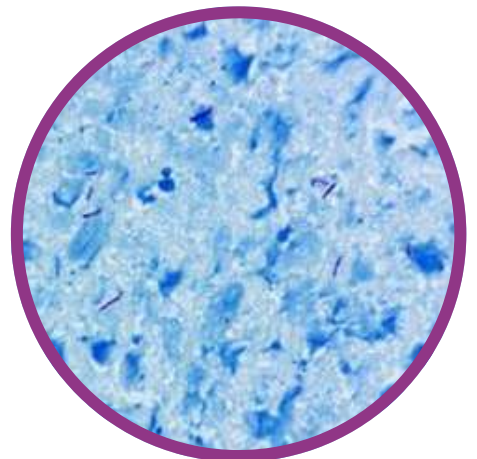
Propósito en el diagnóstico

Visualización de células hematopoyéticas (médula ósea) e identificación de microorganismos específicos en tejidos como *Helicobacter pylori* y *Plasmodium spp.* (Gurina & Simms, 2023)

Ziehl-Neelsen (ZN)

Propósito en el diagnóstico

Identificación de *Mycobacterium tuberculosis* y otras micobacterias en muestras de tejido, especialmente en áreas de necrosis (Admin, 2024, Gurina & Simms, 2023)



Gram

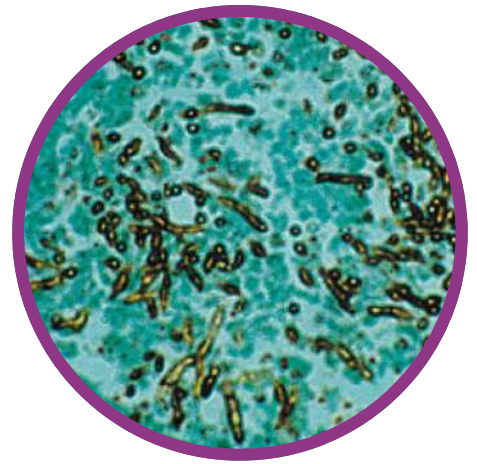
Propósito en el diagnóstico

Diferenciación preliminar de bacterias en Gram positivas (moradas) y Gram negativas (rosas) en tejidos, fundamental para orientar el diagnóstico etiológico de infecciones.

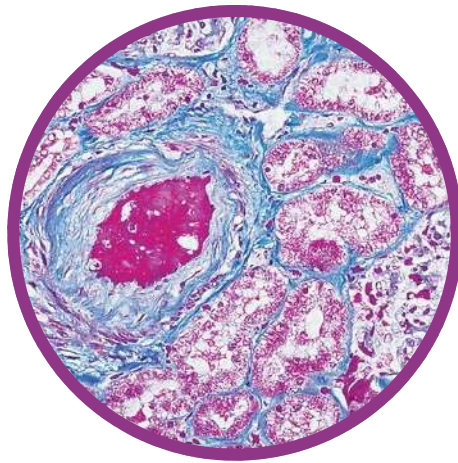
Grocott

Propósito en el diagnóstico

Visualización de microorganismos fúngicos como *Pneumocystis jirovecii* y hongos filamentosos en tejido, siendo más sensible que la tinción de PAS para este propósito (Wang et al., 2022)



Se emplean para evaluar la estructura y organización del tejido:



Tricrómico de Masson

Propósito en el diagnóstico

Evaluación de fibrosis, diferenciación entre tejido conectivo y muscular, y diagnóstico de tumores (ej. distinción entre leiomiomas y fibromas) (Islam & Kumar, 2026)

Fibras reticulares

Propósito en el diagnóstico

Evaluación de la arquitectura de órganos como el hígado (identificación de cirrosis) y del estroma tumoral (Gurina & Simms, 2023, Pombal, s. f.-b))

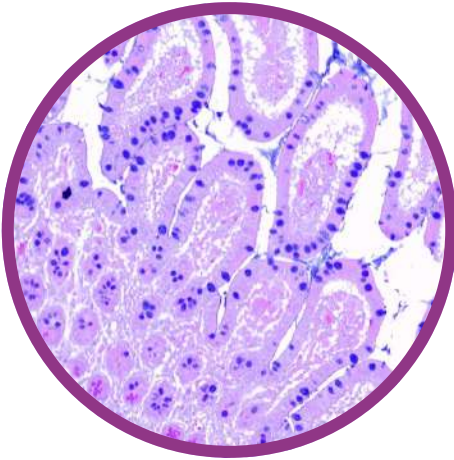


Plata metenamina de Jones

Propósito en el diagnóstico

Evaluación de patologías glomerulares en el riñón, como la enfermedad de membranas basales delgadas o la glomerulonefritis membranosa (Gurina & Simms, 2023)

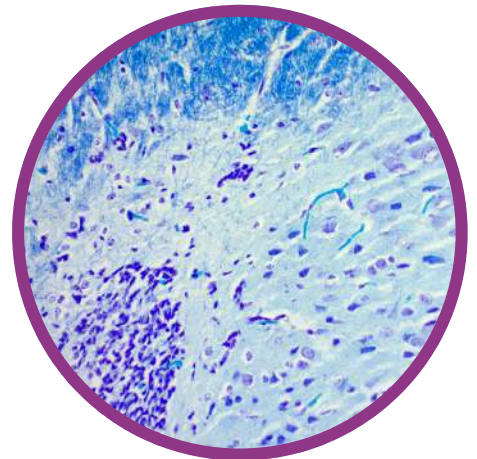
Se utilizan para demostrar compuestos químicos presentes en el tejido:



Azul Alciano

Propósito en el diagnóstico

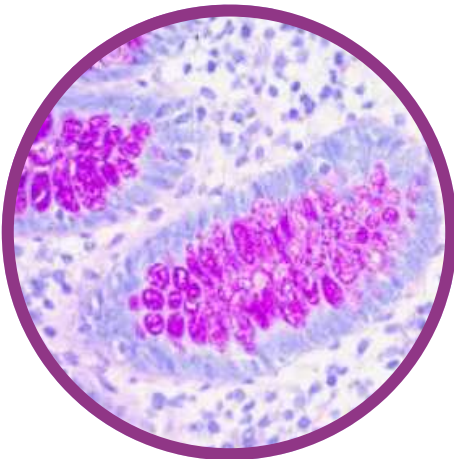
Identificación de células caliciformes, metaplasia intestinal, y caracterización de tumores que producen moco (Gurina & Simms, 2023)



Azul luxol

Propósito en el diagnóstico

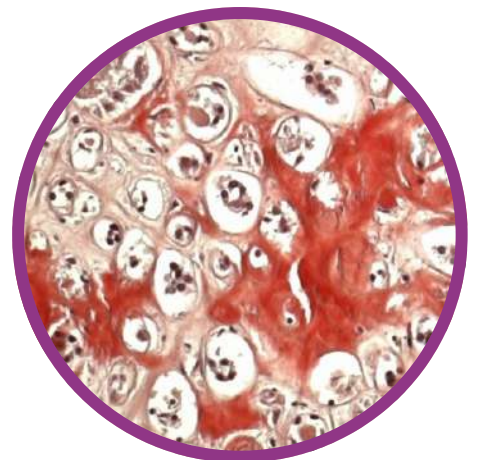
Diagnóstico de enfermedades desmielinizantes del sistema nervioso central como la Esclerosis Múltiple (Miko & Varga, 2015)



Ácido Peryódico de Schiff (PAS)

Propósito en el diagnóstico

Evaluación de membranas basales (ej. en riñón), glucógeno en tumores, y hongos. Se usa junto con azul alciano para diferenciar moco neutro (PAS+) de moco ácido (Alciano+) (Gurina & Simms, 2023)



Rojo Congo

Propósito en el diagnóstico

Diagnóstico y confirmación de amiloidosis en tejidos como riñón, corazón o hígado (Gurina & Simms, 2023)

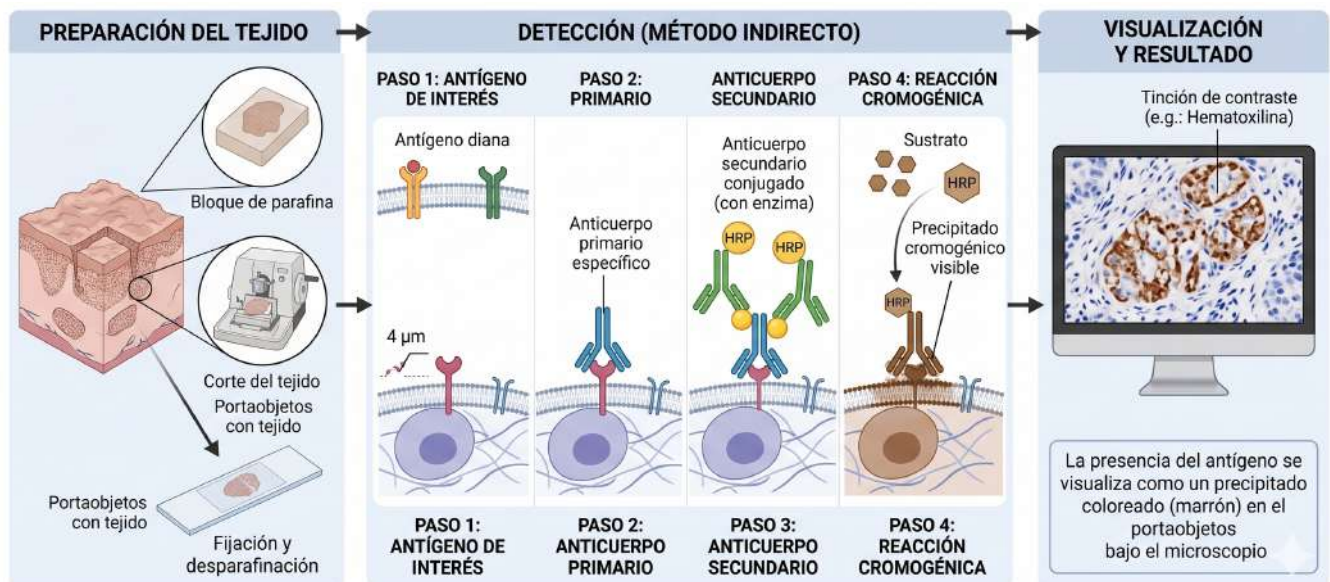


Estos estudios pueden agregar de **2-3 días hábiles** al tiempo de entrega de resultados, ya que es necesario repetir parte del procesamiento de la muestra, incluyendo los pasos 18, 19, 21 y 22 previamente descritos en este manual.

Inmunohistoquímica (IHO)

La inmunohistoquímica es una técnica basada en la reacción específica antígeno-anticuerpo, que permite identificar y localizar proteínas (antígenos) en cortes de tejido previamente fijados e incluidos en parafina. En este método, los anticuerpos se unen de manera selectiva a sus antígenos diana presentes en las células (Shi et al., 2011).

Para visualizar esta unión, los anticuerpos están conjugados directa o indirectamente a un sistema de detección, generalmente una enzima como la peroxidasa, que en presencia de un sustrato cromogénico produce una reacción coloreada visible al microscopio en el sitio donde se encuentra el antígeno.



Utilidad clínica

La inmunohistoquímica es fundamental porque permite:

Diagnóstico	Clasificación precisa de la estirpe tumoral y otras patologías
Pronóstico	Evaluación de la agresividad de la enfermedad
Terapia blanco	Identificación de biomarcadores que permiten seleccionar tratamientos dirigidos

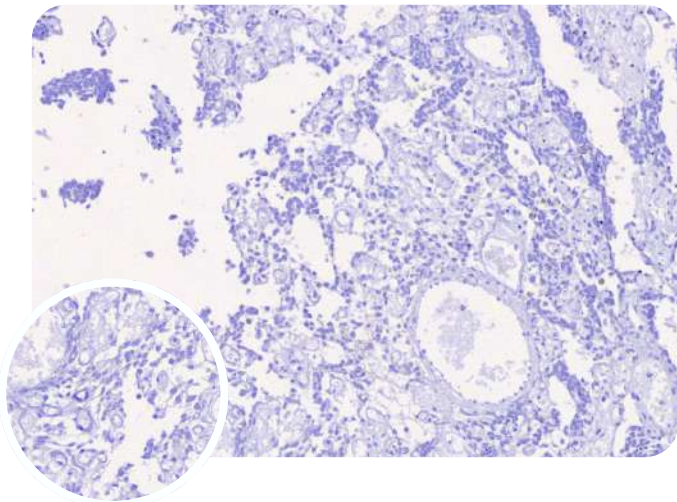
¿Cómo se interpreta una tinción de inmunohistoquímica?

La inmunohistoquímica permite detectar proteínas específicas (biomarcadores) en las células de un tejido.

La interpretación se basa en dos colores: **azul (hematoxilina)** y **marrón (cromógeno)**.

NEGATIVO

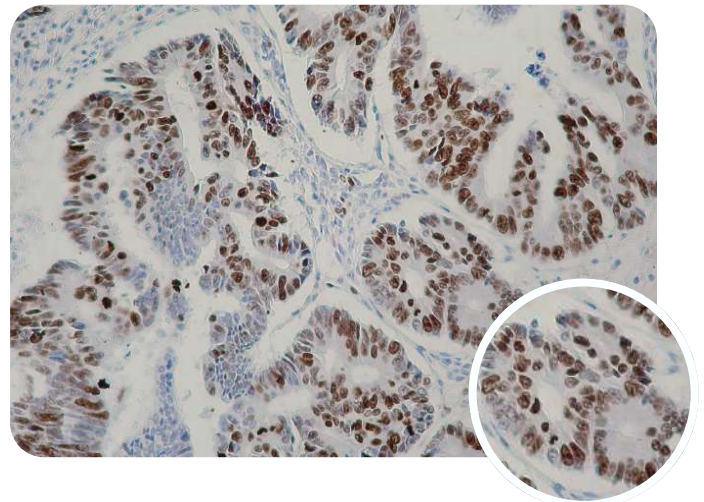
No se detectó la proteína



No se observa tinción marrón.
No hubo unión antígeno-anticuerpo.

POSITIVO

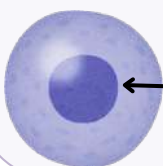
Se detectó la proteína



Se observa tinción marrón.
Hubo unión antígeno-anticuerpo.

¿Por qué algunas células se ven azules?

La hematoxilina es un colorante de contraste que tiñe los núcleos celulares de color azul-violeta, permitiendo observar la estructura general del tejido.



Núcleo teñido de azul

¿Que significa el color marrón?

Es producido por un cromógeno. Cuando el anticuerpo reconoce y se une a su antígeno específico, ocurre una reacción química que genera este color.

Color marrón = presencia del biomarcador buscado

¿Cómo ocurre la tinción?



Referencias

- Alberto. (2010, 12 septiembre). Fijación y conservación de muestras tisulares. - Histopat laboratoris. Histopat Laboratoris. <https://www.histopat.es/2010/09/fijacion-y-conservacion-de-muestras-tisulares/>
- Admin. (2024, 26 enero). Ziehl Neelsen Staining Protocol. IHC WORLD. https://ihcworld-com.translate.goog/2024/01/26/ziehl-neelsen-staining-protocol/?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=es&_x_tr_hl=es&_x_tr_pto=tc
- Aziz, S. J., & Zeman-Pocrnich, C. E. (2022). Tissue Processing. Methods in Molecular Biology, 2422, 47-63. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1948-3_4
- Becette, V., Lacroix, L., Hofman, P., & Ilie, M. (2014). The importance of the preanalytical phase for immunohistochemistry. Annals of Oncology, 25(Suppl. 4), iv48. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdu321.1>
- Bass, B. P., Engel, K. B., Greytak, S. R., & Moore, H. M. (2014). A Review of Preanalytical Factors Affecting Molecular, Protein, and Morphological Analysis of Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded (FFPE) Tissue. Archives of Pathology & Laboratory Medicine, 138(11), 1520–1530. <https://doi.org/10.5858/arpa.2013-0263-RA>
- Buesa, R. J. (2008). Histology without formalin? Annals of Diagnostic Pathology, 12(6), 387–396. <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2008.07.004>
- Bussolati, G., Annaratone, L., Medico, E., D'Armento, G., & Sapino, A. (2011). Formalin fixation at low temperature better preserves nucleic acid integrity. PLoS ONE, 6(6), e21043. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021043>
- BMC Surgery. (2024). Effect of warm and cold ischemia on histopathological evaluation. BMC Surgery. <https://bmcsurg.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12893-024-02652-4>
- Callis, G. M. (2008). Bone. En Elsevier eBooks (pp. 333-363).
- Decalcification | Gross Pathology Manual. (s. f.). <https://voices.uchicago.edu/grosspathology/special-processing/decalcification/>
- Gordon & Sweets Special Stain (Reticulum), technical only – MPLN Test Menu. (s. f.). <https://tests.mplnet.com/test/708/>
- Gurina, T. S., & Simms, L. (2023, 1 mayo). Histology, staining. StatPearls - NCBI Bookshelf. https://www-ncbi-nlm-nih-gov.translate.goog/books/NBK557663/?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=es&_x_tr_hl=es&_x_tr_pto=tc
- Islam, M. A., & Kumar, S. (2026). Masson's Trichrome Staining Technique to Evaluate Tissue Fibrosis. En Methods in molecular biology (Vol. 2983, pp. 91-100). https://doi.org/10.1007/978-1-0716-4901-5_9
- Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. (2021). Robbins & Cotran pathologic basis of disease (10th ed.). Elsevier.
- Lema, M. (2019). Técnicas Histológicas de inclusión en parafina. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. <https://es.scribd.com/document/399332396/Tecnicas-de-Elaboracion-de-Laminillas>

Referencias

- Miko, M., & Varga, I. (2015). Histologic Examination of Peripheral Nerves. En Elsevier eBooks (pp. 79-89). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-410390-0.00006-8>
- Megías, M., Molist, P., & Pombal, M. A. (2023). Atlas de histología vegetal y animal. <http://mmegias.webs.uvigo.es/inicio.html>
- Montalvo Arenas, C. E. (2010). Técnica histológica. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Prentø, P., & Lyon, H. (1997). Commercial Formalin Substitutes for Histopathology. Biotechnic & Histochemistry, 72(5), 273-282. <https://doi.org/10.3109/10520299709082252>
- Pombal, M., Molist, P., & Megías, M. Á. (s. f.). Técnicas Histológicas. 3. Inclusión en parafina. Atlas de Histología Vegetal y Animal. <https://mmegias.webs2.uvigo.es/6-tecnicas/3-parafina.php?tema=>
- Rastogi, V., Puri, N., Arora, S., Kaur, G., Yadav, L., & Sharma, R. (2013). Artefacts: A diagnostic dilemma – A review. Journal of Clinical and Diagnostic Research, 7(10), 2408–2413. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24298579/>
- Rolls, G. (2019, 15 de abril). Una introducción al procesamiento de muestras. Leica Biosystems. <https://www.leicabiosystems.com/es/knowledge-pathway/an-introduction-to-specimen-processing/>
- Rolls, G. (2012, 6 marzo). Fijación y fijadores (2): factores que influyen en la fijación química, el formaldehído y el glutaraldehído. <https://www.leicabiosystems.com/es/knowledge-pathway/fixation-and-fixatives-2-factors-influencing-chemical-fixation-formaldehyde-and-glutaraldehyde/>
- Rolls, G. (2021, 29 junio). Introducción a la microtomía: Preparación y corte de tejidos incluido en parafina. <https://www.leicabiosystems.com/es/knowledge-pathway/steps-to-better-microtomy-flotation-section-drying/>
- Rolls, G. (2013, 22 abril). Una introducción a la descalcificación. <https://www.leicabiosystems.com/es/knowledge-pathway/an-introduction-to-decalcification/>
- Shi, S. R., Cote, R. J., & Taylor, C. R. (2011). Antigen retrieval techniques: Current perspectives. Journal of Histochemistry & Cytochemistry, 59(1), 13–32.
- Spencer, L. T., & Bancroft, J. D. (2008). Microtomy: Paraffin and frozen. En J. D. Bancroft & M. Gamble (Eds.), Theory and practice of histological techniques (6th ed., pp. 93–104). Churchill Livingstone. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-10279-0.50014-2>
- Taqi, S. A., Sami, S. A., Sami, L. B., & Zaki, S. A. (2018). A review of artifacts in histopathology. Journal Of Oral And Maxillofacial Pathology, 22(2), 279. https://doi.org/10.4103/jomfp.jomfp_125_15

Referencias

- Techniques. Protocols. Staining. Alcian blue / PAS. Atlas of plant and animal histology. (s. f.). <https://mmegias.webs2.uvigo.es/02-english/6-tecnicas/protocolos/p-tincion-pas-azul-alcian.php?tema=>
- Varma, M., Collins, L. C., Chetty, R., Karamchandani, D. M., Talia, K., Dormer, J., Vyas, M., Conn, B., Guzmán-Arocho, Y. D., Jones, A. V., Pring, M., & McCluggage, W. G. (2023). Macroscopic examination of pathology specimens: a critical reappraisal. *Journal Of Clinical Pathology*, 77(3), 164-168. <https://doi.org/10.1136/jcp-2023-209045>
- Yousif, M. Q., & Qasem, S. A. (2016). Tissue Processing and Staining for Histological Analyses. En Elsevier eBooks (pp. 49-59). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-801654-1.00003-6>
- Wang, S., Lai, J., Wu, R., Zhang, L., Huang, M., Xiao, Y., Zhang, X., & Chen, J. (2022). Grocott Methenamine Silver Staining Is the Optimal Approach to Histological Diagnosis of Pulmonary Cryptococcosis. *Frontiers In Microbiology*, 13, 885511. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.885511>

¿Alguna duda?

Llámanos

Nuestro equipo está listo para ayudarte.

Horario de atención

Lunes a viernes

09:00 – 18:00

Sábados

09:00 – 13:00

<https://inepat.com>



(222) 2433779



(222) 3666619



Recolección (222) 1746250



Calle 27 Sur 307, La Paz,
72160 Heroica Puebla
de Zaragoza, Pue.

