

MINISTERIO DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE
SALUD DEL NIÑO-SAN BORJA

"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"
"Año de la Lucha contra la Corrupción y la Impunidad"



RESOLUCIÓN DIRECTORAL

Lima, 08 FEB. 2019

VISTO:

El Expediente N°19-000636-001-INSN-SB, sobre aprobación de la "Guía de Procedimiento de Histoquímica para Componentes Orgánicos", elaborado por el Servicio de Anatomía Patológica, de la Sub Unidad de Soporte al Diagnóstico del Instituto Nacional de Salud del Niño - San Borja; y,

CONSIDERANDO:

Que, los artículos I y II del Título Preliminar de la Ley N° 26842, Ley General de Salud, establecen que la salud es condición indispensable del desarrollo humano y medio fundamental para alcanzar el bienestar individual y colectivo, por lo que la protección de la salud es de interés público. Por lo tanto, es responsabilidad del Estado regularla, vigilarla y promoverla;

Que, el segundo párrafo del artículo 5° del Decreto Supremo N° 013-2006-SA, Reglamento de Establecimientos de Salud y Servicios Médicos de Apoyo, establece que los Establecimientos de Salud y Servicios Médicos de Apoyo deben contar, en cada área, unidad o servicio, con manuales de procedimientos, guías de práctica clínica referidos a la atención de los pacientes, personal, suministros, mantenimiento, seguridad, y otros que sean necesarios, según sea el caso;

Que, el inciso s) del artículo 37° del Decreto Supremo N° 013-2006-SA, Reglamento de Establecimientos de Salud y Servicios Médicos de Apoyo, establece que al Director Médico le corresponde disponer la elaboración del Reglamento interno, de las guías de práctica clínica y de los manuales de procedimientos dispuestos en el Artículo 5° del presente Reglamento;

Que, el numeral II.4.2 del Manual de Operaciones del Instituto Nacional de Salud del Niño – San Borja aprobado mediante Resolución Ministerial N° 512-2014/MINSA, establece que la Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento es la Unidad de línea responsable de apoyar el diagnóstico y tratamiento de los problemas clínicos de los pacientes, a través

de procedimientos, estudios y exámenes, según corresponda; así como intervenir en el desarrollo de la política y normas, el desarrollo de la investigación clínica y de docencia del Instituto. Depende jerárquicamente de la Dirección General;

Que, mediante el Anexo 3 de la Ficha de Descripción de Procedimiento: "Elaboración y Aprobación de las Guías de Práctica Clínica y/o Guía de Procedimiento", del Manual de Gestión de Procesos y Procedimientos del Proceso de Gestión de la Calidad, aprobado por Resolución Directoral N° 007/2019/INSN-SB/T, se establece la estructura de la Guía de Práctica Clínica;

Que, mediante la Nota Informativa N° 005-2019-SAP-INSN-SB, la Médico Responsable del Servicio de Anatomía Patológica, remite al Jefe de la Sub Unidad de Soporte al Diagnóstico, la "Guía de Procedimiento de Histoquímica para Componentes Orgánicos"; a fin de que se continúe con el trámite correspondiente para su aprobación, mediante la emisión de la Resolución Directoral;

Que, mediante la Nota Informativa N° 028-2019-SUSD-INSN-SB, el Jefe de la Sub Unidad de Soporte al Diagnóstico, remite al Director Ejecutivo de la Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento, la "Guía de Procedimiento de Histoquímica para Componentes Orgánicos", elaborado por el Servicio de Anatomía Patológica, para su correspondiente revisión y aprobación;

Que, mediante la Nota Informativa N° 0077-2019-UGC-INSN-SB, el Jefe de la Unidad de Gestión de la Calidad, solicita a la Dirección General, la aprobación mediante la emisión de la Resolución Directoral, de la "Guía de Procedimiento de Histoquímica para Componentes Orgánicos", la misma que cuenta con la opinión favorable de la Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento, y de la Unidad de Gestión de la Calidad;

Que, mediante el Memorando N° 081-2019-DG/INSNSB, la Dirección General, solicita a la Jefe de la Unidad de Asesoría Jurídica, se realice las acciones que correspondan de acuerdo al marco normativo vigente, en relación a la "Guía de Procedimiento de Histoquímica para Componentes Orgánicos", elaborado por el Servicio de Anatomía Patológica de la Sub Unidad de Soporte al Diagnóstico;

Que, mediante el Informe Legal N° 033-2019-UAJ-INSN-SB, la Jefa de Oficina de la Unidad de Asesoría Jurídica informa a la Dirección General, que la "Guía de Procedimiento de Histoquímica para Componentes Orgánicos del Instituto Nacional de Salud del Niño - San Borja" se encuentra enmarcada dentro de las normas de la materia, por lo que recomienda su aprobación, mediante la emisión de la Resolución Directoral correspondiente;

Con el visto bueno del Director Adjunto, del Director Ejecutivo de la Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento, del Jefe de Oficina de la Unidad de Gestión de la Calidad; y, de la Jefa de Oficina de la Unidad de Asesoría Jurídica;

Por estas consideraciones, y de conformidad con la Ley N° 26842, con el Decreto Supremo N° 013-2006-SA, con la Resolución Ministerial N° 302-2015/MINSA, con la Resolución Ministerial N° 512-2014/MINSA, y modificada por la Resolución Directoral N° 123-2017-INSN-SB, y; en uso de las facultades otorgadas con la Resolución Ministerial N° 021-2019-MINSA;

SE RESUELVE:

ARTÍCULO 1º.- APROBAR la “Guía de Procedimiento de Histoquímica para Componentes Orgánicos”, elaborado por el Servicio de Anatomía Patología, de la Sub Unidad de Soporte al Diagnóstico del Instituto Nacional de Salud del Niño - San Borja, la misma que forma parte integrante de la presente Resolución.

ARTÍCULO 2º.- ENCARGAR a la Sub Unidad de Soporte al Diagnóstico del Instituto Nacional de Salud del Niño - San Borja, la implementación de la Guía de Procedimiento, aprobada con la presente Resolución.

ARTÍCULO 3º.- ENCARGAR a la Unidad de Gestión de la Calidad, la evaluación del cumplimiento de la presente Guía de Procedimiento.

ARTÍCULO 4º.- DISPONER que se realice la publicación de la presente Resolución en la Página Web de la Institución, conforme a las normas de Transparencia y Acceso a la Información Pública.

REGÍSTRESE, COMUNÍQUESE Y PUBLÍQUESE

 Instituto Nacional de Salud del Niño
San Borja

Dr. A. RICARDO ZOPEF RUBIS
Director General (e)
CMP. 8780 RNE. 2550

ARZR/JELC/dpm

Distribución

- () Dirección Adjunta
- () Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento
- () Unidad de Gestión de la Calidad
- () Unidad de Asesoría Jurídica
- () Unidad de Tecnologías de la Información
- () Archivo



PERÚ

Ministerio
de SaludInstituto Nacional de Salud
del Niño – San Borja

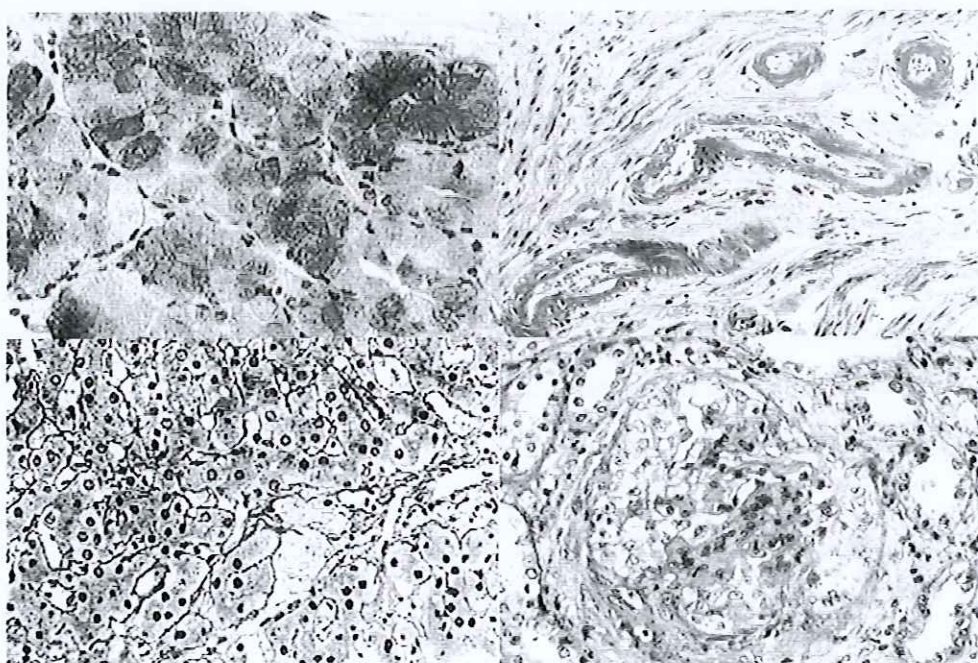
GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUÍMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUÍMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

UNIDAD DE SOPORTE AL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

SUB UNIDAD DE SOPORTE AL DIAGNÓSTICO

SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA



Elaborado por: Equipo Técnico del servicio de Anatomía Patológica de la sub-unidad de Soporte al Diagnóstico.	Revisado por: Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento. Sub-unidad de Soporte al Diagnóstico. Unidad de Gestión de la Calidad.	Aprobado por: Dr. Antonio Ricardo Zopfi Rubio Director del Instituto Nacional de Salud del Niño San Borja.
--	---	---

Fecha: Enero 2019	Código: GP-003/INSN-SB/USDYT- SAP- V.01	Página 1 de 35
-------------------	---	----------------





PERÚ

Ministerio
de Salud

Instituto Nacional de Salud
del Niño – San Borja



GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUÍMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUÍMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

I.	Título.....	3
II.	Finalidad.....	3
III.	Objetivos	3
a.	Objetivos Generales	3
b.	Objetivos Específicos	3
IV.	Ámbito de aplicación.....	4
V.	Nombre del Proceso o Procedimiento a Estandarizar y Código CPT	4
VI.	Consideraciones Generales.....	4
a.	Definiciones Operativas.....	4
	1. Definición del Procedimiento	4
	2. Aspectos Epidemiológicos importantes.....	4
	3. Consentimiento Informado	4
b.	Conceptos Básicos.....	4
c.	Requerimientos Básicos	6
VII.	Consideraciones Específicas	7
a.	Descripción detallada del Proceso o Procedimiento	7
b.	Indicaciones.....	27
c.	Riesgos o complicaciones frecuentes.....	27
d.	Riesgos o complicaciones poco frecuentes.....	27
e.	Contraindicaciones.....	27
VIII.	Recomendaciones.....	27
IX.	Autores, Fecha y Lugar	28
X.	Anexos.....	29
XI.	Bibliografía.....	35

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 2 de 35





PERÚ

Ministerio
de Salud

Instituto Nacional de Salud
del Niño – San Borja



GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

I. TITULO

GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

II. FINALIDAD

Contribuir como un instrumento de apoyo y de mejora continua en los servicios de salud del INSN-SB garantizando la óptima operación en el desarrollo de actividades para la identificación de componentes orgánicos en muestras solicitadas para estudios de técnicas Histoquímicas del Servicio de Anatomía Patológica y poder brindar un diagnóstico definitivo.

III. OBJETIVOS

a. Objetivos generales

Proporcionar de forma ordenada, secuencial y detallada las operaciones que se deben aplicar a los procedimientos para la identificación de componentes orgánicos de muestras solicitadas para estudio Histoquímico.

b. Objetivos específicos

- Definir conceptualmente los procesos y terminología de componentes orgánicos para un mejor entendimiento y aplicación de la Guía de Procedimientos.
- Describir los procedimientos que competen al personal del Laboratorio de Procesamiento de Histoquímica para componentes orgánicos.

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 3 de 35





PERÚ

Ministerio
de Salud

Instituto Nacional de Salud
del Niño – San Borja



GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUÍMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

- Estandarizar los procedimientos ejecutados en el Laboratorio de Procesamiento de Histoquímica para componentes orgánicos.

VI. ÁMBITO DE APLICACIÓN

La Guía de Procedimiento: Histoquímica para componentes orgánicos es de aplicación al Laboratorio del servicio de Anatomía Patológica del INSN-SB.

V. NOMBRE DEL PROCESO O PROCEDIMIENTO A ESTANDARIZAR Y CÓDIGO CPT

Histoquímica para componentes orgánicos - código CPT 88313

VI. CONSIDERACIONES GENERALES

a. Definiciones Operativas

1. Definición del Procedimiento

La Histoquímica para componentes orgánicos es una técnica que permite la identificación y localización de compuestos en las células y tejidos. Esto se consigue provocando reacciones que generan productos insolubles los cuales son coloreados o/u electrodensos visibles por el Microscopio Óptico.

Se debe considerar que las muestras a procesar deben ser tejidos fijadas en formalina e incluidas en parafina.

2. Aspectos Epidemiológicos importantes

No aplica.

3. Consentimiento Informado

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 4 de 35



GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

No aplica.

b. Conceptos Básicos

- **COMPONENTES ORGÁNICOS.-** Son moléculas que tienen carbono con enlaces de hidrógeno, en muchos casos contienen oxígeno, nitrógeno, azufre, fósforo, boro, halógenos y otros elementos menos frecuentes en su estado natural. Las sintetizadas por los seres vivos se llaman biomoléculas y pueden agruparse en cinco grandes tipos: Glúcidos o Hidratos de carbono, Lípidos, Proteínas, Ácidos Nucleicos y Vitaminas.
- **GLÚCIDOS O HIDRATOS DE CARBONO.-** Son polialcoholes oxidados compuestos por carbono, oxígeno e hidrógeno, estos dos en idéntica proporción a la del agua es decir 2:1. Los polisacáridos son glúcidos de molécula muy voluminosa, formada por la condensación de muchas moléculas de monosacáridos (más de diez), con la correspondiente pérdida de moléculas de agua y constituyen el grupo de hidratos de carbono de mayor interés en el laboratorio de Anatomía Patológica. Entre ellos, y además de los polisacáridos simples como el glucógeno, destacan los polisacáridos complejos como mucopolisacáridos, mucoproteínas y mucolípidos.
- **LÍPIDOS.-** Los saponificables cumplen dos funciones primordiales para las células; por una parte los fosfolípidos forman el esqueleto de las membranas celulares (bicapa lipídica); por otra los triglicéridos son el principal almacén de energía.
- **PROTEÍNAS.-** Son biomoléculas que más diversidad de funciones realizan en los seres vivos; prácticamente todos los procesos biológicos dependen de su presencia y/o actividad. Son proteínas casi todas las enzimas, catalizadores de reacciones metabólicas de las células; muchas hormonas, hemoglobina, anticuerpos, receptores celulares, actina y miosina responsables del acortamiento del músculo y colágeno como tejido sostén.
- **OBTENCIÓN DE CORTES.-** Proceso mediante el cual por medio del micrótomos (instrumento de gran precisión) se obtiene cortes delgados parejos y de espesor graduable. El grosor de los cortes más empleado en Anatomía Patológica son los de 2 – 5 micras.
- **COLORANTE.-** Sustancia que puede conferir color a los tejidos.

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 5 de 35



GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

- **COLORANTES DE CONTRASTE.**- Colorante que no interfiere con la reacción histoquímica o inmunohistoquímica brindando una mejor visibilidad de las estructuras.
- **LA HEMATOXILINA (C.I. 75290).**- Es un compuesto que se obtiene de la planta leguminosa *Haematoxylum campechianum L.* Es un producto natural que al ser oxidado constituye una sustancia de color morado oscuro denominada hemateína. Se utiliza en histología para teñir los componentes aniónicos (ácidos) de los tejidos, a los que da una coloración violeta. Tiñe intensamente los núcleos de las células, dado que estos contienen ácidos nucleicos ricos en radicales ácidos.

c. Requerimientos Básicos

c.1 Equipos Biomédicos

- Micrótopo
- Baño María
- Estufa
- Cocina eléctrica
- Balanza
- Refrigeradora
- Microscopio óptico

c.2 Material médico no Fungible

- Micropipetas
- Pizeta
- Plumón hidrofóbico
- Beacker
- Cubetas con tapa para coloraciones
- Gradillas porta láminas para coloración
- Lápiz punta diamante

c.3 Material médico Fungible

- Láminas portaobjetos
- Laminillas cubreobjetos
- Puntas para micropipetas

c.4 Medicamentos (No aplica)

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 6 de 35



GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUÍMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

VII. CONSIDERACIONES ESPECÍFICAS**a. Descripción detallada del Procedimiento**

Para el procesamiento de Histoquímica de componentes orgánicos, se debe tener en cuenta las siguientes consideraciones:

1. Solicitud de estudio para Histoquímica de componentes orgánicos emitida por el Anatómo- Patólogo (*Anexo N°1*).
2. Verificación del número de la solicitud y el tipo de estudio solicitado.
3. Solicitar los bloques de parafina al archivo del servicio de Anatomía Patológica y seleccionar el control positivo a utilizar para ser cortados en el micrótomos, desparafinados e hidratados hasta agua corriente (*Anexo N°2*) y una vez terminado el procedimiento deshidratar, montar y etiquetar (*Anexo N°3*).
4. Los casos para histoquímica tienen que ser registradas en la Bitácora de Histoquímica, el cual es un registro digitalizado creado en la carpeta compartida que sigue la ruta Z:\TECNOLOGIA MEDICA\PATOLOGIA QUIRURGICA\HISTOQUIMICA \BITACORA DE HSTOQUIMICA_2018.xlsx (*Anexo N°4*).
5. Registrar en el sistema Galenos los casos de los marcadores solicitados: SISGalenPlus.exe/
6. Emplear la Guía de preparación de reactivos si fuese necesario.
7. Terminado el procedimiento llenar el cuaderno de entrega de láminas (*Anexo N°5*) y entregar las láminas al patólogo.

Dentro de las reacciones, coloraciones e impregnaciones que se incluyen en Histoquímica para componentes orgánicos tenemos:

Tabla 1. Histoquímica de componentes orgánicos
A.- Reacción de P.A.S.
B.- Reacción de P.A.S – Diastasa para demostrar presencia de glucógeno
C.- Coloración Tricrómica de Masson
D.- Coloración Rojo Congo de Bennhold
E.- Impregnación Argéntica de Gomori para Reticulina

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 7 de 35



GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

F.- Método de Verhoeff para fibras elásticas
G.- Coloración de Van Gieson para fibras colágenas
H.- Coloración Alcian Blue (pH 2.5)
I.- Coloración Metacromática con Azul de Toluidina

A.- REACCIÓN DE P.A.S.

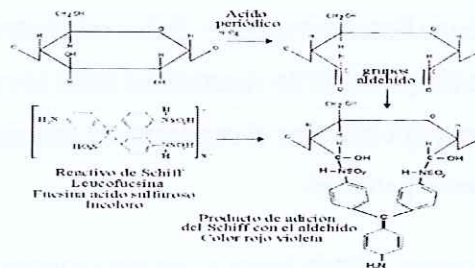
INDICACIONES:

La Reacción de PAS se indica para demostrar la presencia de un elevado número de polisacáridos, desde polisacáridos simples a polisacáridos complejos y neutros, e incluso un subgrupo de polisacáridos complejos ácidos: los fuertemente sulfatados propios de muchas células epiteliales.

FUNDAMENTO DE LA REACCIÓN DE PAS:

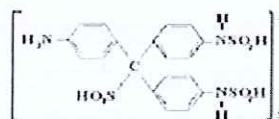
La reacción de P.A.S. tiene dos pasos fundamentales; el primero consiste en la formación de grupos aldehídos, esto se logra gracias a la acción oxidante del ácido peryódico que actúan rompiendo y oxidando los grupos alfa glicol.

El segundo paso consiste en la detección de los grupos aldehídos formados durante la oxidación usando el reactivo de Schiff.



DEFINICIONES:

Reactivo de Schiff. También conocido como Leucofucsina, es un producto de la reacción de la fucsina básica con el SO_2 y HSO_3Na estos rompen el cromóforo (estructura quinoide) del



Reactivo de Schiff
Leucofucsina
Fucsina ácido sulfuroso
Incoloro

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 8 de 35



GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

colorante obteniendo como resultado un líquido incoloro o ligeramente amarillento.

Ácido peryódico (HIO_4). Sustancia oxidante.

Sección Problema. Tejido objeto de estudio que es sometido a una coloración, reacción histoquímica o inmunohistoquímica para saber si presenta o no una determinada estructura o sustancia.

Sección blanco. Sección del tejido objeto de estudio que **no** es sometido a un paso del método histoquímico o inmunohistoquímico, casi siempre la oxidación. Permite la demostración de falsos positivos.

Sección control o patrón positivo. Tejido “modelo” que sabemos dará una coloración, reacción histoquímica o inmunohistoquímica positiva. Establece la eficacia de los reactivos y del procedimiento usado.

PROCEDIMIENTO:

1. Realizar el Procedimiento de corte de la sección problema y patrón considerando el grosor a 2 micras, además realizar un corte adicional como lámina blanco (*Anexo 2*).
2. Continuar con el Procedimiento de desparafinar e hidratar hasta agua corriente (*Anexo 2*).
3. Tratar las secciones problema y patrón con ácido peryódico durante 10 minutos, mientras que la lámina blanco se dejará en agua corriente por el mismo tiempo.
4. Lavar con agua destilada.
5. Tratar las láminas con el reactivo de Schiff de 5 a 15 minutos.
6. Lavar con agua destilada por 2 minutos.
7. Incubar en Baño Flotación $50^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ por 2 minutos.
8. Contrastar con la hematoxilina de Harris durante 30 segundos (Este tiempo será variable de acuerdo al grado de madurez y al uso del colorante).
9. Lavar en agua corriente durante 2 minutos.
10. Verificar si los núcleos están bien teñidos observando al microscopio.
11. Deshidratar, montar y etiquetar (*Anexo 3*).

Para patrón positivo de la coloración se puede utilizar los siguientes tejidos: biopsia de colon, estómago, hígado.

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 9 de 35

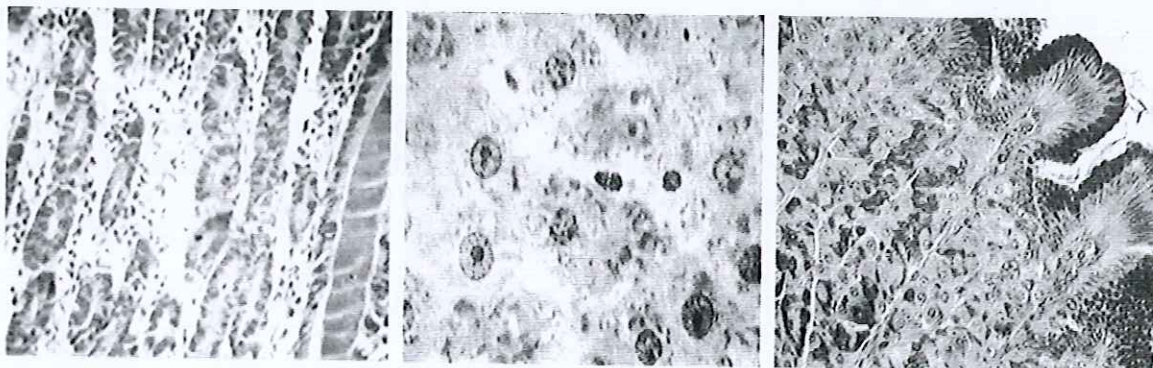


GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS:

Las sustancias que dan reacción P.A.S. positiva son de color rojo magenta, núcleos de color azul. Los lugares con reacción positiva en la muestra problema, deberán ser negativos en la muestra blanco.

La muestra blanco deberá ser totalmente negativa a la reacción, si hubiera alguna positividad esta se debe a grupos aldehídos propios del tejido, y esto no debe considerarse como reacción P.A.S. positiva.

**B.- REACCIÓN DE P.A.S. – DIASTASA PARA DEMOSTRAR PRESENCIA DE GLUCÓGENO****INDICACIONES:**

La Reacción de PAS-Diastasa se indica como un control negativo para el glucógeno. La diastasa es una enzima que consume el glucógeno y el PAS es una reacción que colorea de color magenta en presencia de glucógeno. Cuando ambas son usadas un color rosado pálido reemplaza el magenta. La diferencia en la intensidad de ambas coloraciones (PAS y PAS-D) puede ser atribuida a la concentración de glucógeno.

FUNDAMENTO DE LA REACCIÓN DE P.A.S - DIASTASA:

La reacción de P.A.S. tiene dos pasos fundamentales; el primero consiste en la formación de grupos aldehídos, esto se logra gracias a la acción oxidante del ácido peryódico que actúan rompiendo y oxidando los grupos alfa glicol. El segundo paso consiste en la detección de los grupos aldehídos usando el reactivo de Schiff.

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 10 de 35

GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

De la muestra problema se correrán dos láminas, una de las cuales sufrirá previamente la digestión con amilasa salival (lámina testigo).

DEFINICIONES:

Diastasa.- Es una enzima que ayuda a descomponer los hidratos de carbono y los convierten en azúcar, lo que los hace más fáciles de digerir. Amilasa y glucoamilasa son las enzimas que se encuentran en la saliva humana que ayudan a descomponer los carbohidratos en azúcar para que de esta manera se puedan digerir.

Lámina testigo.- Es otra sección del mismo tejido objeto de estudio (problema), al que previamente a la reacción histoquímica, se le somete a una extracción específica de la sustancia a demostrar ya sea por acción enzimática o por hidrólisis ácida. Una reacción negativa en esta sección y una reacción positiva del problema nos confirman la sustancia objeto de estudio.

PROCEDIMIENTO:

1. Realizar el Procedimiento de corte en el micrótopo de la sección problema y patrón considerando el grosor a 2 micras, además realizar el corte adicional de una lámina testigo y una lámina blanco (*Anexo 2*).
2. Continuar con el Procedimiento de desparafinar e hidratar hasta agua corriente (*Anexo 2*).
3. La lámina testigo se somete a la digestión salival durante 15 minutos. La saliva debe ser abundante para evitar se seque sobre el portaobjetos. La lámina o sección problema- patrón y la lámina blanco se dejará en agua corriente por el mismo tiempo.
4. Lavar todas las láminas en agua corriente.
5. Tratar la sección problema-patrón y testigo con ácido peryódico durante 10 minutos, mientras que la sección blanco se dejará en agua corriente por el mismo tiempo.
6. Lavar todas las láminas con agua destilada.
7. Tratar todas las láminas con el reactivo de Schiff de 5 a 15 minutos.

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 11 de 35





GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

8. Lavar con agua destilada por 2 minutos.
9. Incubar en Baño Flotación 50°C +/- 2 °C por 1 minuto.
10. Contrastar con la hematoxilina de Harris durante 30 segundos. Este tiempo será variable de acuerdo al grado de madurez y al uso del colorante.
11. Lavar en agua corriente durante 2 minutos.
12. Verificar si los núcleos están bien teñidos observando al microscopio.
13. Deshidratar, montar y etiquetar (*Anexo 3*).

Para patrón positivo de la coloración se puede utilizar los siguientes tejidos: hígado.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS:

Las sustancias que dan reacción P.A.S positiva en la lámina problema y que dan reacción negativa en la lámina con digestión salival (lámina testigo) corresponden al glucógeno; aquellas que mantienen positividad en esta última lámina no corresponden a glucógeno, núcleos de color azul.

La muestra blanco deberá ser totalmente negativa a la reacción, si hubiera alguna positividad esta se debe a grupos aldehídos propios del tejido, y esto no debe considerarse como reacción P.A.S. positiva.

C.- COLORACIÓN TRICRÓMICA DE MASSON**INDICACIONES:**

Se utiliza para identificar el tejido muscular, fibras de colágeno y eritrocitos en muestras de tejido; el principal valor de este tipo de tinción es la evaluación del tipo y cantidad del material extracelular. Las tres estructuras tisulares demostradas por los tres colorantes que componen la tinción son: núcleo, citoplasma y colágena extracelular.

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 12 de 35





GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

FUNDAMENTO DE LA COLORACIÓN TRICRÓMICA DE MASSON:

Las coloraciones tricrómicas funcionan mejor con mezclas fijadoras que contengan mercurio sin embargo por su toxicidad se están utilizando cada vez menos y se emplean otros fijadores como Bouin y formol, la calidad de tinción tricrómica en material fijado en formol mejora si antes de hacer la tinción el corte es tratado con soluciones como Bouin, Zenker, o formol-zinc.

Los procedimientos de coloraciones tricrómicas se llaman así porque usan 3 colorantes. El mecanismo de la tinción no está completamente desarrollado, y puede estar relacionado en parte con el tamaño de las diferentes moléculas del colorante. Las secciones se tiñen primero con un colorante ácido como Escarlata Biebrich; todos los elementos de tejido acidófilo, como citoplasma, músculo y colágeno, se unirán a los colorantes ácidos. Las secciones se tratan con ácido fosfotúngstico y / o fosfomolibdico. Debido a que el citoplasma es mucho menos permeable que el colágeno, los ácidos fosfotúngstico y fosfomolibdico causan que el Escarlata Biebrich se difunda fuera del colágeno pero no fuera del citoplasma de las células. El ácido fosfotúngstico y el ácido fosfomolibdico tienen numerosos grupos ácidos que muy probablemente actúen como un enlace entre el colágeno decolorado y el azul de anilina, el colorante de colágeno. Probablemente, el pH de la solución de ácido fosfotúngstico / fosfomolibdico también aumenta la tinción selectiva de colágeno y ayuda a la difusión o eliminación de Escarlata Biebrich.

DEFINICIONES:

Fijador Bouin.- Es una mezcla fijadora muy utilizada en histopatología. Es muy útil para tejidos blandos y embriones, y preserva bien el núcleo y el glucógeno. También actúa como mordiente ya que ayuda a la tinción con determinados colorantes. Su capacidad fijadora se basa en la acción del ácido pícrico, que provoca precipitación de moléculas, y del formaldehído, que forma entrecruzamientos entre proteínas del tejido.

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 13 de 35





GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

Colágeno.- El colágeno es una molécula proteica o proteína que forma fibras, las fibras colágenas. Son secretadas por las células del tejido conjuntivo como los fibroblastos, así como por otros tipos celulares. Es el componente más abundante de la piel y de los huesos, cubriendo un 25 % de la masa total de proteínas en los mamíferos. Forman estructuras que resisten las fuerzas de tracción lo que provoca su compactación y su estiramiento. Su diámetro en los diferentes tejidos es muy variable y su organización también. Se describen varios tipos de colágeno.

PROCEDIMIENTO:

1. Realizar el Procedimiento de corte en el micrótopo de la sección problema y patrón considerando el grosor a 2 micras (*Anexo 2*).
2. Continuar con el Procedimiento de desparafinar e hidratar hasta agua corriente (*Anexo 2*).
3. Sobrefijar (mordentar) la lámina problema- patrón con la solución de Bouin a 60°C (en la estufa) por 15 minutos o a temperatura ambiente por 30 minutos.
4. Lavar con agua corriente hasta que desaparezca la coloración amarillenta del Bouin.
5. Colorear con Hematoxilina de Weigert por 10 minutos.
6. Lavar con agua por 1 minuto.
7. Colorear con Escarlata de Biebrich por 15 a 20 minutos.
8. Lavar con agua destilada.
9. Agregar la solución de Ácidos fosfotungsticos y/o fosfomolibdicos por 5 segundos.
10. Decantar.
11. Agregar el azul de anilina por 20 minutos.
12. Lavar con agua destilada
13. Deshidratar, montar y etiquetar (*Anexo 3*).

Observación: Observar al microscopio en cada paso, para continuar con el procedimiento.

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 14 de 35

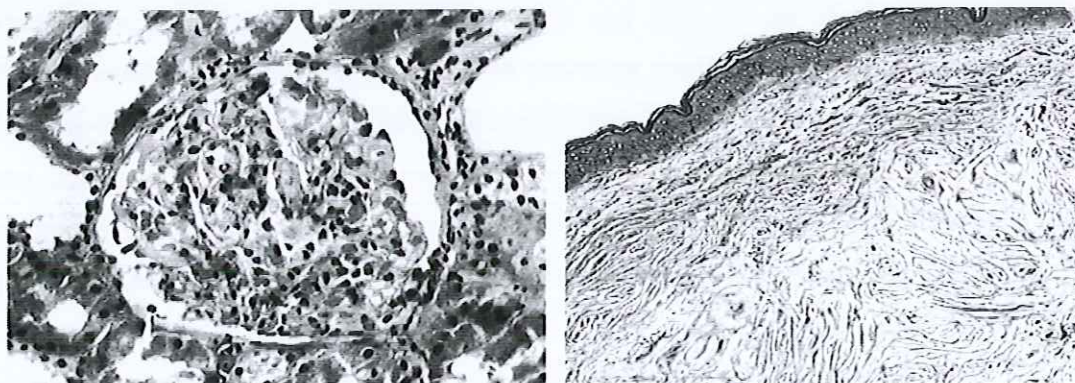


GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

Para patrón positivo de la coloración se puede utilizar los siguientes tejidos: Útero, intestino delgado, hígado, apéndice o trompa de Falopio.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS:

Los núcleos se observarán de color azul o negro, el citoplasma, queratina, eritrocitos y las fibras musculares de color rojo; la fibrina de color rosa y las fibras colágenas y moco de color azul.

**D.- COLORACIÓN ROJO CONGO DE BENNHOLD****INDICACIONES:**

Es la técnica más práctica para la demostración de sustancia amiloide. Este procedimiento utiliza una solución de Rojo Congo, así como sales para reducir la tinción electroquímica de fondo y refuerza la unión entre el colorante Rojo Congo y los amiloides.

FUNDAMENTO DEL MÉTODO DE ROJO CONGO DE BENNHOLD:

Éste método se basa en que este colorante diazoico se dispone paralelamente a las fibrillas de amiloide para luego unirse mediante puentes de hidrógeno entre los grupos oxidrilos de las fibrillas y los grupos amino laterales del colorante.

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 15 de 35





GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

La coloración con rojo Congo funciona sobre la base de enlaces por puente de hidrógeno con el componente de hidrato de carbono del sustrato. El amiloide, teñido por el rojo Congo, muestra un llamativo birrefringencia bajo la luz polarizada, los sedimentos muestran sectores verdes luminosos sobre fondo oscuro, mientras que otros materiales, como colágeno, que también son teñidos por el rojo Congo, no muestran este efecto.

DEFINICIONES:

Amiloide.- El material amiloide es de origen proteico, insoluble y resistente a la proteólisis. Está formado en un 95% por fibrillas de amiloide, los cuales son polímeros insolubles formados por subunidades proteicas de bajo peso molecular que provienen de precursores solubles que adquieren una estructura secundaria anormal en lámina β -antiparalela. El otro 5% del material amiloide corresponde a factores que, probablemente, contribuyen a la estabilización de las fibrillas, de los cuales los más importantes son el componente sérico P, proteoglicanos y glicosaminoglicanos, procedentes de la matriz extracelular del tejido de depósito.

Es una sustancia que se deposita entre las células de distintos tejidos y órganos del cuerpo en una situación patológica. El depósito provoca la atrofia de las células adyacentes a él.

Rojo Congo.- Es una sal de sodio de 3,3'-([1,1'-bifenil]-4,4'-diyl) bis (4-aminonaftalen-1-ácido sulfónico). Es un secundario del Azo derivado. El Rojo Congo es soluble en agua, conformando una solución roja coloidal; su solubilidad es mucho mejor en solventes orgánicos como el etanol.

PROCEDIMIENTO:

1. Realizar el Procedimiento de corte en el micrótomos de la sección problema y patrón considerando el grosor a 3 micras (*Anexo 2*).
2. Continuar con el Procedimiento de desparafinar e hidratar hasta agua corriente (*Anexo 2*).
3. Colorear la lámina con Rojo Congo por 1 h.

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 16 de 35



GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

4. Lavar con agua destilada.
5. Diferenciar con solución alcohol alcalino.
6. Lavar con agua destilada (2 o 3 veces hasta q salga la coloración roja intensa y quede un color rojo pálido).
7. Contrastar con hematoxilina 30 segundos y azulear en agua tibia.
8. Deshidratar rápidamente, montar y etiquetar (*Anexo 3*).

Para patrón positivo de la coloración se puede utilizar: Tejido con depósitos de amiloide.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS:

Observadas las láminas con luz convencional, los depósitos de amiloide varían de color naranja a rojo. Otros componentes como el tejido elástico, fibras de celulosa, paredes de variedades de hongos y gránulos eosinófilos también adquieren esta coloración, los núcleos de color azul. Cuando se observa con luz polarizada, los depósitos de amiloide exhiben birrefringencia verde.

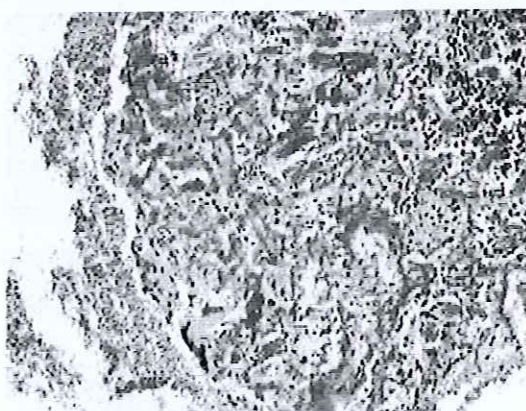


Imagen observada con microscopio óptico

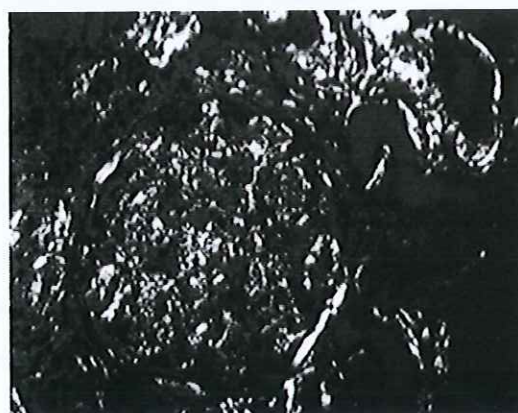


Imagen observada con Luz polarizada

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.0I

Página 17 de 35





PERÚ

Ministerio
de Salud

Instituto Nacional de Salud
del Niño – San Borja



GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

E.- IMPREGNACIÓN ARGÉNTICA DE GOMORI PARA RETICULINA

INDICACIONES:

Esta técnica se emplea para identificar una forma primitiva de tejido conjuntivo denominada reticulina. Este procedimiento emplea una solución de nitrato de plata amoniacal para teñir las fibras de reticulina presentes en el tejido. A continuación, se reduce la plata para producir una coloración negra de las fibras, que quedan visibles mediante microscopio óptico.

FUNDAMENTO DE IMPREGNACIÓN ARGÉNTICA DE GOMORI PARA RETICULINA:

Se trata de una técnica de impregnación argéntica en dos tiempos. La primera fase tratará al nitrato de plata con una base fuerte como el hidróxido de potasio y el hidróxido de amonio obteniendo óxido de plata el cuál precipitará en forma de granulaciones parduzcas. En la segunda fase se adiciona como agente reductor el formol.

Antes de la impregnación se realiza una oxidación con permanganato potásico al 0.5% seguida del blanqueamiento con ácido oxálico al 5% y un mordentaje con sulfato de amonio férrico al 3%.

DEFINICIONES:

Fibras Reticulares.- Las fibras reticulares o Reticulina son un tipo de fibra del tejido conectivo compuesto por colágeno tipo III. Las fibras reticulares se entrecruzan para formar una malla fina. Esta red actúa como una malla de soporte en los tejidos blandos como el hígado, la médula ósea y los tejidos y órganos del sistema linfático.

Impregnación.- Se denomina impregnación a toda coloración especial en la que se utilizan sales metálicas (cloruro de oro, nitrato de plata, sales de cromo, etc.) para originar precipitados metálicos en las estructuras que va a ser coloreadas. El objetivo de la

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 18 de 35



GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

impregnación argéntica es precipitar plata metálica a partir de sus sales para conseguir que se deposite sobre los tejidos.

Mordiente.- Es toda sustancia que actúa como eslabón o vínculo entre el tejido y el colorante acrecentando la unión específica entre ambos, de forma que sin su presencia, este último no es capaz de unirse a la estructura a teñir.

PROCEDIMIENTO:

1. Realizar el Procedimiento de corte en el micrótopo de la sección problema y patrón considerando el grosor a 2 micras (*Anexo 2*).
2. Continuar con el Procedimiento de desparafinar e hidratar hasta agua corriente (*Anexo 2*).
3. Agregar a la lámina problema-patrón Permanganato de Potasio al 0.5% por 1 minuto.
4. Lavar con agua destilada.
5. Agregar Acido Oxálico al 5% por 2 minutos.
6. Lavar con agua destilada.
7. Agregar sulfato de amonio férrico al 3% por 20 minutos.
8. Lavar con agua destilada.
9. Agregar la Solución de Plata (Plata de Wilder) por 2 a 5 minutos.
10. Lavar con agua destilada rápidamente.
11. Agregar Formol al 2%, la reticulina toma un color marrón a negro. Observar al microscopio.
12. Lavar con agua destilada.
13. Agregar cloruro de oro 2% por 1 minuto (*Opcional*).
14. Lavar con agua destilada.
15. Contrastar con Eosina durante unos segundos. Este tiempo será variable dependiendo del grado de madurez y uso del colorante.
16. Lavar en agua.
17. Deshidratar, montar y etiquetar (*Anexo 3*).

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 19 de 35



GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

Para patrón positivo de la coloración se puede utilizar los siguientes tejidos: Hígado, bazo o nódulo linfático.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS:

Las fibras reticulares se observan de color negro, los núcleos de color grisáceo y las otras estructuras tisulares de color naranja.

**F.- MÉTODO DE VERHOEFF PARA FIBRAS ELÁSTICAS****INDICACIONES:**

Se utiliza para evidenciar las fibras elásticas en un tejido biológico (identificación de venas, arterias, determinar si hay o no invasión de vasos sanguíneos en el tumor, etc.) y en especial las enfermedades que lo afectan, esto incluye atrofia de tejido elástico, adelgazamiento o pérdida que puede resultar en cambios arterioscleróticos, reduplicación, rompimiento o partimiento que derivan en enfermedades vasculares.

FUNDAMENTO DEL MÉTODO DE VERHOEFF PARA FIBRAS ELÁSTICAS:

Este método emplea una solución colorante de tejido elástico a base de cloruro férrico y yodo quienes actúan como mordientes además de oxidantes para convertir la hematoxilina en hemateína. El probable mecanismo de coloración es que el colorante se une formando

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 20 de 35



GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

puentes hidrogeno, sin embargo el grupo que reacciona con la hematoxilina no se ha identificado aún.

La diferenciación se logra mediante el uso de mordiente en exceso, o cloruro férrico a menor concentración, para romper el complejo tejido-mordiente-colorante. El colorante será atraído por la gran cantidad de mordiente en la solución de diferenciación y será removido del tejido. El tejido elástico tiene una mayor afinidad por el complejo hematoxilina-fierro y retendrá el colorante más que otros elementos del tejido. Esto permite que los otros elementos sean decolorados y las fibras elásticas permanezcan coloreadas, el tiosulfato de sodio ayuda a remover el exceso de yodo y el Van Gieson es el contraste más usado pero pueden usarse otros como Eosina.

DEFINICIONES:

Fibras elásticas.- Las fibras elásticas son paquetes de proteínas (elastina) que se encuentran en la matriz extracelular del tejido conectivo y son producidas por los fibroblastos y las células del músculo liso en las arterias. Estas fibras pueden estirarse hasta 1.5 veces su longitud, y se ciñen a su longitud original cuando está relajado. Las fibras elásticas son la elastina, elaunin y oxitalán.

Diferenciación.- Consiste en eliminar el exceso de colorante mediante agentes diferenciadores (disoluciones alcohólicas de ácidos o álcalis, etanol, acetona, etc.).

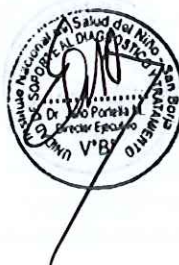
PROCEDIMIENTO:

1. Realizar el Procedimiento de corte en el micrótomos de la sección problema y patrón considerando el grosor a 2 micras (*Anexo 2*).
2. Continuar con el Procedimiento de desparafinar e hidratar hasta agua corriente (*Anexo2*).
3. Agregar la solución de Verhoeff por 20 -30 minutos.
4. Lavar con agua destilada.
5. Diferenciar con cloruro férrico 2%. Observar al microscopio que las fibras elásticas queden de color negro.

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 21 de 35



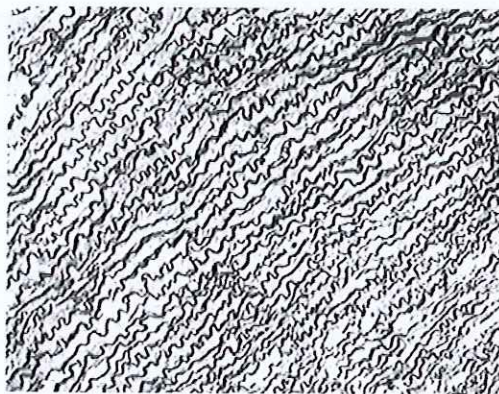
GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

6. Repetir el paso 3, si es que se decoloro demasiado.
7. Agregar Tiosulfato de sodio al 5 % de 30 segundos a 1 minuto.
8. Lavar con agua destilada
9. Contrastar con Eosina por unos segundos.
10. Lavar con agua corriente.
11. Deshidratar, montar y etiquetar (*Anexo 3*).

Para patrón positivo de la coloración se puede utilizar los siguientes tejidos: Arteria o piel.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS:

Las fibras elásticas se observan de color azul negruzco a negro, núcleo de color azul a negro, fibras colágenas de color rojo a naranja y otros elementos tisulares de color amarillo.

**G.- COLORACIÓN DE VAN GIESON PARA FIBRAS COLÁGENAS**

Esta coloración fue desarrollada por el neuropsiquiatra y patólogo Ira Van Gieson, se trata de una coloración tricrómica compuesta de una coloración nuclear (hematoxilina férrica), una coloración citoplasmática por un colorante ácido (amarillo de metanilo o ácido pícrico) y una coloración electiva de la colágena por otro colorante ácido (fucsina ácida).

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 22 de 35

GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

El mecanismo por el que se produce la coloración no es conocido, pero se cree que los mecanismos de difusión selectiva de cada colorante desempeñan un papel fundamental, sobre todo si se tiene en cuenta que el problema principal de la técnica es la sobrecoloración.

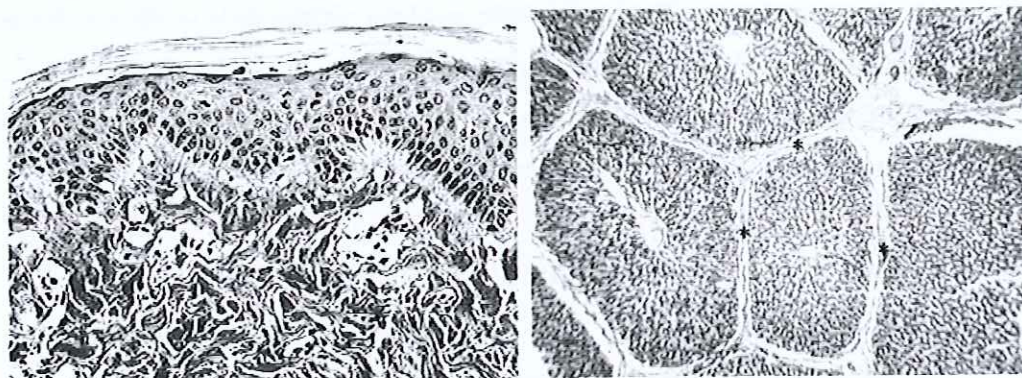
PROCEDIMIENTO:

1. Realizar el Procedimiento de corte en el micrótopo de la sección problema y patrón considerando el grosor a 2 micras (*Anexo 2*).
2. Continuar con el Procedimiento de desparafinar e hidratar hasta agua corriente (*Anexo 2*).
3. Colorear con hematoxilina de Weigert por 10 minutos.
4. Lavar con agua corriente por 2 minutos y enjuagar con agua destilada.
5. Agregar Van Gieson por 10 minutos.
6. Lavar con agua destilada rápidamente y observar al microscopio.
7. Deshidratar a temperatura ambiente o estufa, montar y etiquetar.

Para patrón positivo de la coloración se puede utilizar los siguientes tejidos: hígado, testículo.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS:

Las fibras colágenas se observan de color rojo o rosa; músculo, citoplasma y epitelio cornificado de color amarillo y núcleo de color marrón o negro.



Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 23 de 35





GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

H.- MÉTODO ALCIÁN BLUE (PH 2.5)**INDICACIÓN:**

Esta coloración permite identificar los mucopolisacáridos ácidos y mucosustancias (glucosaminoglicanos ácidos sulfatados y no sulfatados). Ciertas cantidades se producen normalmente en las paredes de los vasos sanguíneos, pero se incrementan en lesiones tempranas de aterosclerosis.

FUNDAMENTO DEL MÉTODO ALCIÁN BLUE (PH 2.5):

El Alcian Blue es un colorante básico polivalente que pertenece al grupo de las ftalocianinas o pigmentos pirrólicos, cuyo principio coloreador es el cobre presente en su estructura. Este colorante tiene gran afinidad por los grupos ácidos de los glucosaminoglicanos, dando una coloración específica con los glucosaminoglicanos ácidos sulfatados cuando se usa a PH de 0.5 a 1; mientras que su especificidad varía hacia los glucosaminoglicanos ácidos no sulfatados y sulfatados cuando se le usa a PH 2.5.

Este método se basa en la competencia de los iones de magnesio con Alcian blue por los sitios de unión sobre los mucopolisacáridos; a mayor concentración de iones magnesio mayores sitios de unión estarán bloqueados para unirse con el Alcian blue. En caso de las mucosustancias la coloración se basará en la unión con el cobre del Alcian Blue.

PROCEDIMIENTO

1. Realizar el Procedimiento de corte en el micrótomos de la sección problema y patrón considerando el grosor a 2 micras (*Anexo2*).
2. Continuar con el Procedimiento de desparafinar e hidratar hasta agua corriente (*Anexo 2*).
3. Incubar en ácido Acético al 3% durante 3 minutos.
4. Decantar.
5. Incubar con Alcian Blue al 1% por 30-60 minutos.
6. Lavar con agua.
7. Contrastar con Eosina por unos segundos.

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 24 de 35



GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

8. Lavar con agua.
9. Deshidratar, montar y etiquetar (*Anexo 3*).

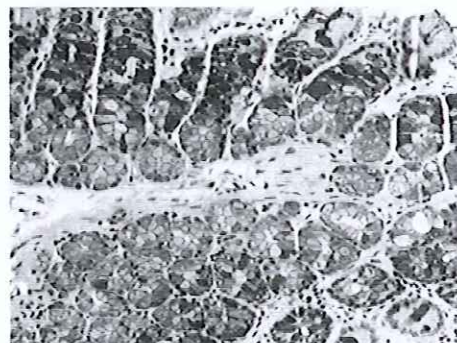
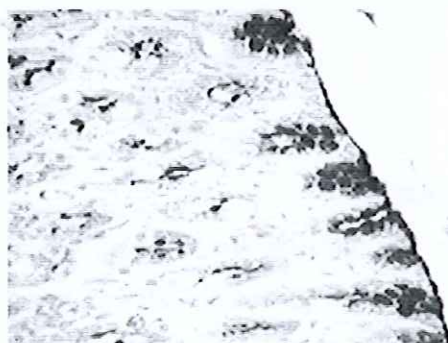
Para patrón positivo de la coloración se puede utilizar los siguientes tejidos: colon y apéndice.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS:

Los glucosaminoglicanos ácidos no sulfatados y sulfatados se observan de color azul (glucocalix, ácido hialurónico, sialomucinas, cápsula mucoide de *Cryptococcus neoformans*), citoplasma de color rosa pálido.



Observación: El Alcian Blue puede ser combinado con la técnica de PAS para demostración de mucinas neutrales y ácidas.



Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 25 de 35





GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

I.- COLORACIÓN METACROMÁTICA CON AZUL DE TOLUIDINA

El azul de toluidina es uno de los colorantes de tiazina, que son muy adecuados para tinción nuclear de material histológico. Con azul de toluidina se puede visualizar la metacromasia, esto se debe a que en tejidos con altas concentraciones de POLIANIONES, la molécula del colorante se polimeriza entre si y sus propiedades de absorción son diferentes de las propiedades de las moléculas individuales; por ello la variación del color. Se interpreta que la metacromasia refleja gran cantidad de cargas aniónicas muy cercanas unas a otras en el tejido, una situación prevalente en la sustancia fundamental del cartílago y en los gránulos de los mastocitos, el Azul de Toluidina tiñe a estos de color púrpura. Los componentes tisulares que pueden colorearse metacromáticamente, denominados Cromotropos, son principalmente los glucosaminoglicanos sulfatados y las nucleoproteínas. Se observan coloraciones metacromáticas en mucopolisacáridos, especialmente en glándulas mucíparas sulfatadas, cartílagos, células caliciformes y gránulos de mastocitos.

PROCEDIMIENTO:

1. Realizar el Procedimiento de corte en el micrótomos de la sección problema y patrón considerando el grosor a 3 micras (*Anexo 2*).
2. Continuar con el Procedimiento de desparafinar e hidratar hasta agua corriente (*Anexo 2*).
3. Teñir con azul de toluidina por 5 minutos.
4. Enjuagar con agua destilada.
5. Dejar secar al ambiente.
6. Montar y etiquetar.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS:

La metacromasia α se observa de color azul por ejemplo en los núcleos. La metacromasia β se observa de color azul violáceo por ejemplo glucosaminoglicanos ácidos no sulfatados (ácido hialurónico) del cordón umbilical. La metacromasia γ se observa de color rojo

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 26 de 35





GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUÍMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

violáceo por ejemplo glucosaminoglicanos ácidos sulfatados (ácido condroitin sulfato) del cartílago hialino de la tráquea. La metacromasia δ se observa de color rojo, por ejemplo en hongos.

b. Indicaciones:

La técnica de Histoquímica de componentes orgánicos está indicada para la identificación, localización y cuantificación de una sustancia en un tejido o en una célula, presente en una sección histológica; el cual contribuirá junto con otros estudios a un adecuado diagnóstico Anatomo-patológico.

c. Riesgos o Complicaciones frecuentes:

Exposición a productos químicos tóxicos e irritantes: Manipular el Amoniaco, nitrato de plata y otros más con los implementos de bioseguridad recomendados, por ser productos químicos con alta toxicidad.

d. Riesgos o Complicaciones poco frecuentes:

No aplica

e. Contraindicaciones:

No aplica

VIII. RECOMENDACIONES

- Los resultados de las tinciones de Histoquímica deben ser correlacionados con los resultados obtenidos en la coloración de Hematoxilina – Eosina así como estudios de Inmunohistoquímica y Microscopia Electrónica si fuera necesario para un adecuado diagnóstico.

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 27 de 35





PERÚ

Ministerio
de Salud

Instituto Nacional de Salud
del Niño – San Borja



GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

- La validez de los resultados va a estar determinada por la calidad de la imagen que se observará en el microscopio óptico.

IX. AUTORES, FECHA Y LUGAR

- Nombre del Autor:

Lic. Saby Natalia Fonseca Chávez.

Sfonseca@insnsb.gob.pe

- Fecha de elaboración y Lugar del Procedimiento.

Enero 2019, Instituto Nacional Del Niño San Borja/Servicio de Anatomía Patológica.

- Vigencia:

2 años a partir de su aprobación.

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 28 de 35





PERÚ

Ministerio
de SaludInstituto Nacional de Salud
del Niño – San Borja

GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

X. ANEXOS**ANEXO N°1: FORMATO DE SOLICITUD DE ESTUDIO PARA HISTOQUIMICA**

PERÚ

Ministerio
de Salud

SOLICITUD DE ESTUDIO ANATOMOPATOLOGICO SERVICIO DE ANATOMIA PATOLOGICA	DATOS DEL PACIENTE				CODIGO AP:
	APELLIDOS Y NOMBRES				
	EDAD	SEXO	SERVICIO	HC	FECHA DE SOLICITUD

HISTOQUIMICA:

AURAMINA
ALCIAN BLUE
AZUL DE TOLUIDINA
BROWN-BREN
GIEMSA
GRAM

GROCCOT
DESPIGMENTACION DE MELANINA
FONATANA DE MASSON
METEN PLATA
OIL RED
PAS

PAS DIASTASA
PERLS
RETICULINA
ROJO CONGO
SUDAN III o IV
TRIC MASSON

VAN GIESON
VERHOEFF
VON KOSSA
ZIELH NEELSEN

OBSERVACIONES

FIRMA Y SELLO DEL MEDICO SOLICITANTE

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 29 de 35





PERÚ

Ministerio
de Salud

Instituto Nacional de Salud
del Niño – San Borja



GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

ANEXO N° 2: PROCEDIMIENTO DE CORTE, DESPARAFINIZACIÓN E HIDRATACIÓN

Procedimiento de corte:

1. Cortar los bloques de parafina de la muestra problema en el micrótomos de rotación a un grosor de 2 a 4 micras según Histoquímica a determinar.
2. Una vez obtenido el corte colocarlo en un recipiente que contenga la siguiente solución: 1 litro de agua con 100ml de alcohol de 70°.
3. Recoger el corte de la solución con la lámina portaobjetos previamente rotulado y colocarla en el baño de flotación (Temperatura del agua: 50°C +/- 2 °C) por un par de segundos.
4. Retirar el corte del baño de flotación con la misma lamina y dejar que se escurra.
5. Repetir el mismo proceso para los respectivos patrones positivos y ubicar los cortes en la parte inferior de cada una de las láminas con la muestra problema.
6. Colocar las láminas en una canastilla y llevarlas a la estufa a 70°C por al menos 20 minutos.
7. Retirar la canastilla con las láminas de la estufa y llevarlas a desparafinar e hidratar.

Procedimiento de desparafinización e hidratación:

8. Sumergir la canastilla con láminas en el xilol 1 durante 5 minutos.
9. Retirarlas escurriendo bien y llevarlas a la estufa a 70° C por 5 minutos.
10. Una vez cumplido el tiempo, sumergir la canastilla de láminas en el xilol 2 durante 5 minutos.
11. Sumergir las láminas en alcohol absoluto 1 durante 2 minutos.
12. Sumergir las láminas en alcohol absoluto 2 durante 2 minutos.
13. Sumergir las láminas en alcohol corriente 1 (96°) durante 2 minutos.
14. Sumergir las láminas en alcohol corriente 2 (96°) durante 2 minutos.
15. Lavar en agua corriente durante 2 minutos.

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 30 de 35





GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

ANEXO N°3: PROCEDIMIENTO DE DESHIDRATACIÓN, MONTAJE Y ETIQUETADO DE LÁMINAS**Procedimiento de deshidratación:**

1. Sumergir las láminas 5 veces en alcohol corriente N° 1 (96°).
2. Sumergir las láminas 5 veces en alcohol corriente N° 2 (96°).
3. Sumergir las láminas 5 veces en alcohol corriente N° 3 (96°).
4. Sumergir las láminas 5 veces en alcohol absoluto N°1.
5. Sumergir las láminas 5 veces en alcohol absoluto N°2.
6. Aclarar las láminas en Xilol 1 y Xilol 2 durante 1 minuto en cada uno.

Montaje de láminas:

1. Colocar las laminillas cubre objeto en la mesa y agregar una gota de solución de montaje (bálsamo de Canadá o Entellán).
2. Tomar una lámina con la muestra hacia bajo y presionar lentamente sobre la laminilla cubre objeto conteniendo la solución de montaje, centrarla y retirar las burbujas de aire.
3. Limpiar con una tela el exceso de solución de montaje.
4. Etiquetar las láminas según el código correspondiente con adhesivos.

Entrega de láminas:

1. Entregar láminas al Médico Patólogo correspondiente.
2. Entregar los bloques de parafina a archivo.

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 31 de 35



ANEXO N°4: BITACORA DE HISTOQUÍMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

[illegible]

Archivo digitalizado, carpeta compartida que sigue la ruta Z:\TECNOLOGIA MEDICA\PATOLOGIA QUIRURGICA\HISTOQUIMICA \BITACORA DE HSTOQUIMICA_2018.xlsx

Fecha: Enero 2019

**Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01**

Página 32 de 35



GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

ANEXO N° 5: FORMATO DE ENTREGA DE LÁMINAS DE HISTOQUÍMICA A MICROSCOPIA

[illegible]

Fecha: Enero 2019

**Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01**

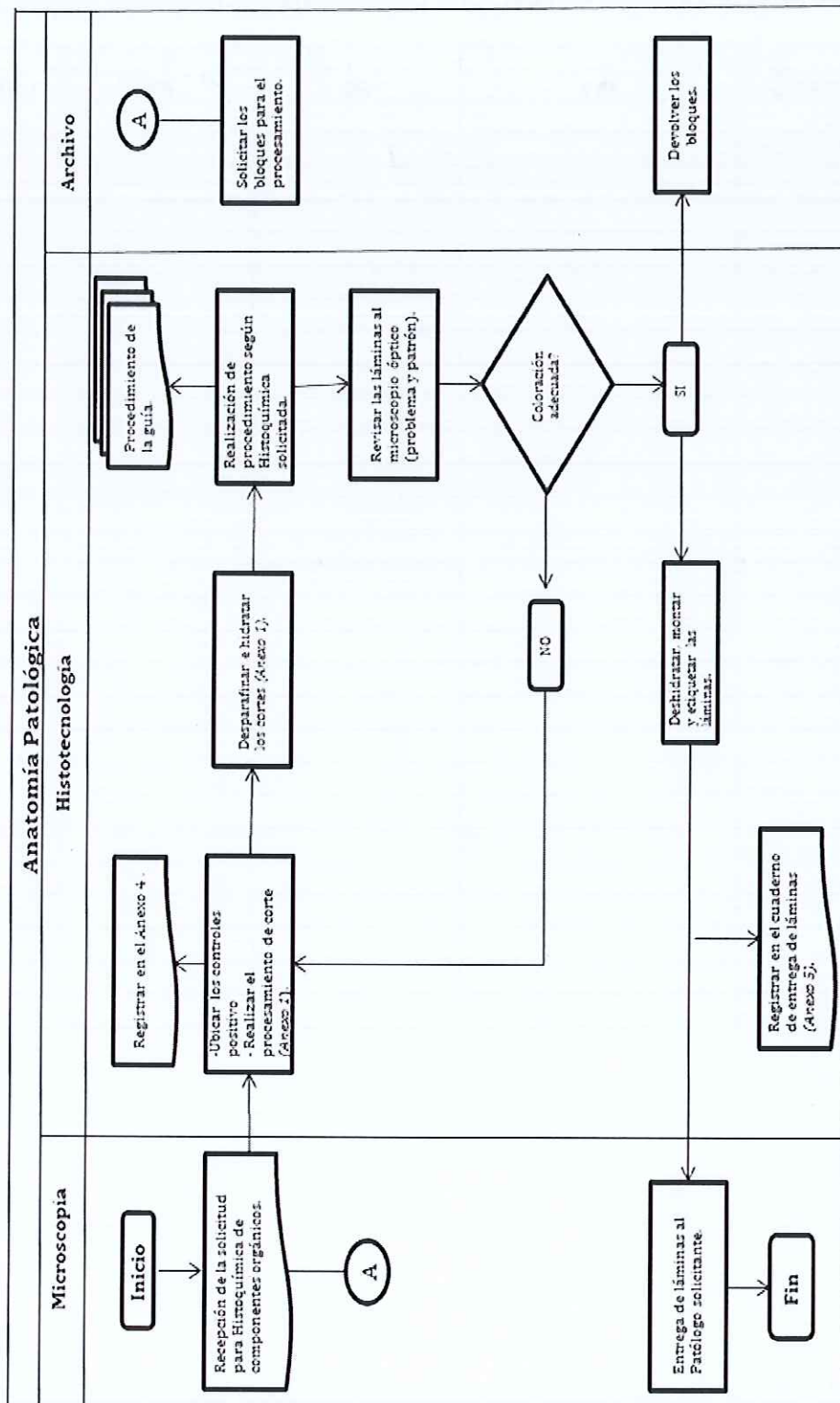
Página 33 de 35





GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

ANEXO N° 6: FLUJOGRAMA DE HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS





PERÚ

Ministerio
de Salud

Instituto Nacional de Salud
del Niño – San Borja



GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOQUIMICA PARA COMPONENTES ORGÁNICOS

XI. BIBLIOGRAFÍA

- A. Burck, H. C. Técnica histológica Manual para realizar preparaciones microscópicas en el laboratorio. Madrid. Ed Paz Montalvo; 1969.
- B. Montuenga Badía L., Esteban Ruiz F., Calvo Gonzáles A. Técnicas en histología y biología celular. 2º Edición. Barcelona. Ed. Elsevier Masson; 2014.
- C. Raimundo García del Moral. Laboratorio de anatomía patológica. Madrid. Ed Interamericana - McGraw-Hill; 1993.
- D. Bancroft J, Gamble M. Theory and practice of histological thechniques. 6ta ed. England. Churchill Livingstone. 2008.

Fecha: Enero 2019

Código: GP-003/INSN-SB/
USDYT- SAP- V.01

Página 35 de 35

