

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, 12 FEB. 2019

VISTO:

El Expediente N° 19-001211-001-INSN-SB, sobre aprobación de la "Guía de Procedimiento de Histología - Procesamiento de Tejidos, versión 2", 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° 006-2019-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 Histología - Procesamiento de Tejidos, versión 2"; 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° 058-2019-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 Histología - Procesamiento de Tejidos, versión 2", elaborado por el Servicio de Anatomía Patológica, para su correspondiente revisión y aprobación;

Que, mediante la Nota Informativa N° 00100-2019-UGC-INSN-SB, el Jefe de la Unidad de Gestión de la Calidad, solicita al Dirección General, la aprobación mediante la emisión de la Resolución Directoral, de la "Guía de Procedimiento de Histología - Procesamiento de Tejidos, versión 2", la misma que cuenta con la opinión favorable de la Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento, de la Sub Unidad de Soporte al Diagnóstico y de la Unidad de Gestión de la Calidad;

Que, mediante el Memorando N° 084-2019-DG/INSNSB, la Dirección General solicita a la Jefe de la Unidad de Asesoría Jurídica, realice las acciones que correspondan de acuerdo al marco normativo vigente, en relación a la "Guía de Procedimiento de Histología - Procesamiento de Tejidos, versión 2", elaborado por Servicio de Anatomía Patológica de la Sub Unidad de Soporte al Diagnóstico;

Que, mediante el Informe Legal N° 040-2019-UAJ-INSN-SB, la Jefa de Oficina de la Unidad de Asesoría Jurídica informa a la Dirección General, que la "Guía de Procedimiento de Histología - Procesamiento de Tejidos, versión 02" del Instituto Nacional de Salud del Niño - San Borja, se encuentra enmarcada dentro de las normas de la materia, por lo que se 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 con la Resolución Directoral N° 123-2017-INSN-SB, con la Resolución Directoral N° 007-2019-INSN-SB y; en uso de las facultades otorgadas con la Resolución Ministerial N° 021-2019-MINSA;

SE RESUELVE:


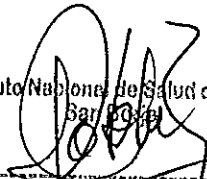
ARTÍCULO 1°.- APROBAR la "Guía de Procedimiento de Histología - Procesamiento de Tejidos, versión 02", de la Sub Unidad de Soporte al Diagnóstico, del Instituto Nacional de Salud del Niño - San Borja, que forma parte integrante de la presente Resolución.

ARTÍCULO 2°.- ENCARGAR a la Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento, la implementación de la Guía de Procedimiento, aprobada con la presente Resolución.

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

ARTÍCULO 4°.- 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 ZOPPI RUBIO
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



GUIA DE PROCEDIMIENTO: HISTOLOGIA - PROCESAMIENTO DE TEJIDOS

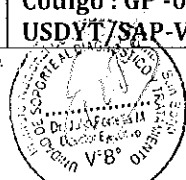
GUIA DE PROCEDIMIENTO: HISTOLOGIA - PROCESAMIENTO DE TEJIDOS

I.	Título.....	3
II.	Finalidad.....	3
III.	Objetivos	3
a.	Objetivos Generales	3
b.	Objetivos Específicos	3
IV	Ámbito de aplicación.....	3
V.	Nombre del Proceso o Procedimiento a Estandarizar y Código CPT	3
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	7
VII.	Consideraciones Específicas	8
	a. Descripción detallada del Proceso o Procedimiento:.....	8
	b. Indicaciones	12
	1. Indicaciones Absolutas.....	12
	2. Indicaciones Relativas	12
	c. Riesgos o Complicaciones Frecuentes:.....	12
	d. Riesgos o Complicaciones poco Frecuentes:.....	13
	e. Contraindicaciones	13
VIII.	Recomendaciones.....	13
IX.	Autores, Fecha y Lugar.....	14
X.	Anexos.....	15
XI.	Bibliografía.....	23

Fecha: Enero 2019

Código : GP -001/ INSN-SB/
USDYT/SAP-V.02

Página 2 de 23





PERÚ

Ministerio
de Salud

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DEL NIÑO DE SAN BORJA
UNIDAD DE GERENCIA DE LA INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO



GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOLOGÍA - PROCESAMIENTO DE TEJIDOS

I. TÍTULO

GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOLOGÍA - PROCESAMIENTO DE TEJIDOS

II. FINALIDAD

Garantizar el óptimo desarrollo de actividades para el procesamiento de tejidos del servicio de Anatomía Patológica, así como, orientar al personal de salud que desee consultar sobre los pasos a seguir en el procesamiento de tejidos que incluye:

- Procesamiento de tejidos de forma manual y automatizada.
- Inclusión o formación de bloques de parafina.
- Corte de bloques de parafina y coloración de láminas.

III. OBJETIVOS

a. Objetivos Generales

Desarrollar las principales técnicas histológicas aplicadas en el estudio de los tejidos de origen humano.

b. Objetivos Específicos

Coadyuvar el diagnóstico histopatológico a través de métodos histológicos de rutina.

IV. ÁMBITO DE APLICACIÓN

La presente guía está indicada para su uso en el laboratorio de Histotecnología, del servicio de Anatomía Patológica del Instituto Nacional de Salud del Niño de San Borja.

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

CPT 88382- Pieza Quirúrgica Pequeña (<0.5 CC, biopsia gástrica, duodenal, colon).

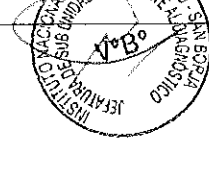
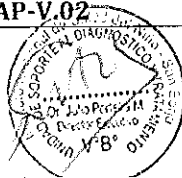
CPT 88381- Pieza Quirúrgica Mediana (>0.5 CC, biopsia de piel, biopsia hepática por aguja, cuña hepática).

CPT 88380- Pieza Quirúrgica Grande (>5 cm: apéndice, resección intestinal).

Fecha : Enero 2019

Código : GP -001/ INSN-SB/
USDYT/SAP-V.02

Página 3 de 743





VI. CONSIDERACIONES GENERALES

a. Definiciones Operativas

1. Definición del Procedimiento

El procesamiento de tejido; es el sistema de actividades y de acciones, que se relacionan entre sí, dirigida a la obtención de láminas histológicas para el estudio histopatológico.

El procesamiento de tejidos propiamente dicho en esta guía empieza desde la deshidratación aclaramiento e impregnación en parafina.

2. Aspectos Epidemiológicos importantes

No aplica

3. Consentimiento Informado

No aplica

b. Conceptos Básicos

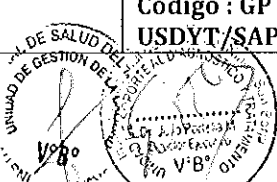
▪ FIJACIÓN:

Procedimiento que evita que se desnaturalicen los elementos celulares en las muestras histológicas, ya sea por sus propias enzimas (autólisis), o por bacterias; los tejidos deben ser fijados, inmediatamente después de ser extraídos; esto para mantener su composición tanto estructural como química, lo más inalterada posible, de tal forma que sus componentes celulares mantengan las mismas características, que cuando dicho ser o tejidos estaban vivos. Usar solución de formol al 10%, en una relación muestra/fijador 1/20 respectivamente es lo recomendado, el tiempo de fijación es por lo menos 01 día y va a variar de acuerdo al tamaño de muestra. Fijadores compuestos o mezclas fijadoras (Anexo 1).

Visualizar también en guía de procedimientos de manejo de muestras y macroscopía.

▪ FORMOL:

Es un compuesto químico, más específicamente un aldehído altamente volátil y muy inflamable, de fórmula $H_2C=O$. Se obtiene por oxidación catalítica del alcohol metílico. En





GUIA DE PROCEDIMIENTO: HISTOLOGIA - PROCESAMIENTO DE TEJIDOS

condiciones normales de presión y temperatura es un gas incoloro, de un olor penetrante, muy soluble en agua y en ésteres. Las disoluciones acuosas al 40% se conocen con el nombre de formol, que es un líquido incoloro de olor penetrante y sofocante, se usa al 10% como fijador histológico de tejidos en laboratorios de Anatomía Patológica.

■ DESHIDRATACIÓN:

Proceso que tiene por finalidad la eliminación completa de agua del espécimen o muestra tisular para que se pueda embeber adecuadamente el tejido en aquellos medios de inclusión que no sean hidrosolubles, para lo cual los tejidos son sumergidos en líquidos anhidros, ávidos de agua, para evitar alteraciones provocadas por una deshidratación brusca, se aconseja proceder escalonadamente utilizando, preferentemente, alcohol etílico de graduación creciente. Las piezas perfectamente deshidratadas se sumergen en el disolvente, xilol o sustituto del xilol, los cuales producen cierta transparencia a los tejidos y que además son solubles con la parafina. Al agregar, no debe aparecer ninguna turbidez. Si se pone blanco-lechoso es que la deshidratación no ha sido bien lograda y debemos repetir el baño de alcohol absoluto cerciorándonos que realmente lo sea: una gota de alcohol agregada a unos ml de xilol no debe enturbiarlo.

■ PARAFINA:

La parafina es una mezcla de tipo céreo, de hidrocarburos saturados que tienen diferentes puntos de fusión. Parafina blanda funde a 44 – 48°C y la parafina dura a 56 – 58°C.

■ IMPREGNACION EN PARAFINA:

Proceso por el cual la parafina (que se encuentra en una estufa o equipo dispensador) en su estado líquido (punto de fusión 56-58°C) ingresa o penetra en el tejido para servir como soporte interno al momento de la realización de cortes en el micrótom. La formación de bloques se realiza en moldes de metal (cuyo tamaño dependerá del tipo de muestra) en donde se vierte la parafina fundida, del mismo punto de fusión de la que ha servido para la penetración. Se colocan las piezas orientándolas y luego se pone el molde en frío para para luego de 15-30 minutos la parafina se solidifique completamente.

Preparación del taco: Se corta trozos de parafina (tallado) que no contiene la muestra en forma de pirámide truncada, de manera tal que la misma quede sobre la base menor, esto ayudara al proceso de corte en el micrótom.

■ MICROTOMO:

Fecha : Enero 2019	Código : GP -001/ INSN-SB/ USDYT/SAP-V.02	Página 23 de 23
--------------------	--	-----------------



PERÚ

Ministerio
de SaludInstituto Nacional de Salud
Calle Mitre 330, Lima 1**GUIA DE PROCEDIMIENTO: HISTOLOGIA - PROCESAMIENTO DE TEJIDOS**

Equipo que permite la obtención de secciones muy delgadas de tejido y seriado, son instrumentos de gran precisión.

- **OBTENCIÓN DE CORTES:**

Proceso mediante el cual se obtienen cortes de tejidos impregnados en parafina, por medio de micrótopo. Se obtiene cortes delgados parejos y de espesor graduable. Los cortes más empleados son los de 2-5 micrones.

- **COLORACIÓN:**

Proceso mediante el cual un cuerpo es teñido por una sustancia colorante, sin perder el color cuando es lavado con el disolvente utilizado al preparar la solución colorante.

- **COLORANTE:**

Sustancia que pueden conferir color a los tejidos; Según su origen se clasifican en:

- Colorantes naturales:
 - Animales (carmín)
 - Vegetales (hematoxilina, orceína, azafrán)
- Colorantes artificiales o sintéticos (colores de anilina)
- Ácidos: sales cuya base es incolora y su ácido es coloreado (eosina o eosinato de sodio). Son colorantes citoplasmáticos.
- Básicos: sales cuya base es coloreada y el ácido es incoloro (azul de metileno o clorhidrato de azul de metileno). Son colorantes nucleares.
- Neutros: sales en las que tanto el ácido como la base son coloreados. Tiñen el núcleo de un color y el citoplasma de otro.
- Indiferentes: no forman sales. Tiñen aquellas sustancias que tienen un poder disolvente superior al del líquido que ha servido para preparar la solución colorante (Sudán III, rojo escarlata).
- Por otro lado, las coloraciones pueden ser:
 - Ortocromáticas: los tejidos adquieren un color igual al de la solución colorante empleada.
 - Metacromáticas: una sustancia o un componente celular se tiñe con un color diferente al del colorante empleado.

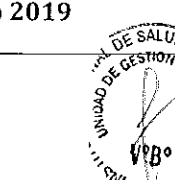
- **HEMATOXILINA - EOSINA:**

Coloración de rutina usada en Anatomía Patológica, La hematoxilina es un colorante básico y por lo tanto se unirá a las estructuras ácidas (ácidos nucleicos). La eosina es un

Fecha: Enero 2019

Código : GP -001/ INSN-SB/
USDYT/SAP-V.02

Página 6 de 23





PERÚ

Ministerio
de Salud

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DEL NIÑO
INISN



GUIA DE PROCEDIMIENTO: HISTOLOGIA - PROCESAMIENTO DE TEJIDOS

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

▪ XILOL:

Solución que tienen un alto índice de refracción poniendo al tejido claro o transparente, miscible en agentes deshidratantes y medios de infiltración.

c. Requerimientos Básicos

Equipos Biomédicos.

- Microscopio óptico binocular
- Procesador automático de tejidos
- Sistema de inclusión en parafina, enfriamiento de bloques.
- Micrótomos de rotación tipo minott
- Baño de flotación
- Estufa de calor seco
- Refrigeradora
- Balanza digital

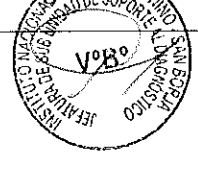
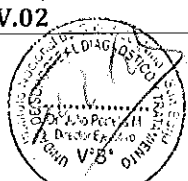
Materiales Médicos no Fungibles.

- Canastillas de acero porta láminas.
- Porta láminas de plástico.
- Cubetas de vidrio o acero inoxidable
- Cronómetro
- Matraz de 1000ml, 500ml
- Probetas graduadas de 50ml, 100ml, 500ml, 1000ml
- Pipetas graduadas
- Varilla agitador de vidrio
- Pinzas de acero
- Mechero de alcohol

Fecha : Enero 2019

Código : GP -001/ INSN-SB/
USDYT/SAP-V.02

Página 7 de 23





GUÍA DE PROCEDIMIENTO: HISTOLOGIA - PROCESAMIENTO DE TEJIDOS

Materiales Médicos Fungibles.

- Hematoxilina de Harris
- Óxido de mercurio amarillo
- Sulfato de amonio y aluminio
- Ácido clorhídrico
- Carbonato de litio
- Hidróxido de amonio
- Alcohol de 96°
- Alcohol absoluto
- Xilol
- Medio de montaje - entellán
- Guantes de látex
- Papel filtro
- Láminas portaobjeto
- Láminas cubreobjetos

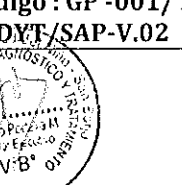
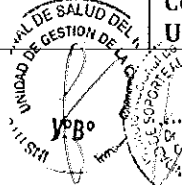
VII. CONSIDERACIONES ESPECÍFICAS

a. Descripción detallada del Proceso o Procedimiento:

En general, los pasos de las técnicas microscópicas para obtener un preparado histológico son:

Tabla 01

1. Obtención de la muestra	Ver guía de procedimientos de Macroscopía.
2. Fijación.	
3. Deshidratación, aclaración e impregnación en parafina	<p style="text-align: center;">GUÍA "PROCESAMIENTO DE TEJIDOS".</p>
4. Inclusión.	
5. Corte (Micrótomo).	
6. Coloración y montaje de láminas.	





PERÚ

Ministerio
de Salud

Instituto Nacional de Salud
Unidad de Gestión de Laboratorios



GUIA DE PROCEDIMIENTO: HISTOLOGIA - PROCESAMIENTO DE TEJIDOS

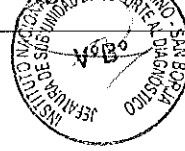
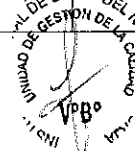
PASOS DEL PROCESAMIENTO DE TEJIDOS:

1. Una vez obtenido los cortes o muestra representativa de un tejido (que ha sido enviado al Servicio de Anatomía Patológica para su estudio) estos deben estar en casset correctamente cerrados y rotulados, (ver guía de procedimientos de Macroscopia), el siguiente paso es el "procesamiento del tejido".
2. En el área de macroscopia verificar las órdenes médicas ya rotuladas que deben estar dentro del cuaderno de macroscopia indicando la cantidad de casset por orden.
 - 2.1 Deben de coincidir la cantidad de casset descrita en la orden, con los casset que están en el frasco con formol antes enviar al procesador de tejidos.
 - 2.2 Registrar en el cuaderno de histotecnología, la cantidad de casset que serán enviados a procesamiento tanto por código, servicio, fecha y responsable del envío.
3. En el Procesador de Tejidos:
 - 3.1 Colocar los casset ordenadamente en la canastilla del procesador de tejidos e iniciar el proceso utilizando el programa N° 02.
VER INSTRUCTIVO SOBRE EL MANEJO DEL PROCESADOR DE TEJIDOS (Anexo 2)
 - 3.2 El proceso del tejido iniciará y terminará a la hora indicada según le programa elegido; (Anexo 2) en este paso el tejido será sometido a la deshidratación, aclaramiento e impregnación en parafina (VER TABLA 01).
 - 3.3 Una vez que haya terminado el proceso, retirar los casset de la parafina verificando y registrando en el cuaderno de histotecnología. Colocarlos en el calentador de porta bloques (del sistema de inclusión en parafina).

Fecha : Enero 2019

Código : GP -001/ INSN-SB/
USDYT/SAP-V.02

Página 9 de 23





GUIA DE PROCEDIMIENTO: HISTOLOGIA - PROCESAMIENTO DE TEJIDOS

4. Formación de Bloques de Parafina:

- 4.1 Coger cada casset y seleccionar un molde metálico que se adecue al tamaño del tejido.
- 4.2 Dispensar la parafina líquida en el molde y orientar el tejido con ayuda de una pinza metálica caliente.
- 4.3 Enfriar el bloque en el peltier (zona fría) del dispensador de parafina para luego colocar el casset sin tapa que servirá como soporte para su uso en el micrótomos.
- 4.4 Colocar el bloque de parafina con el molde metálico en la placa fría para que se endurezca por unos minutos, despegando después el molde del bloque de parafina.
- 4.5 Limpiar el exceso de parafina de los bordes del bloque.

5. Corte en el Micrótomos de Rotación:

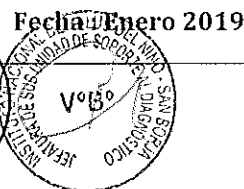
- 5.1 Primero se realizará el desbaste del bloque con una cuchilla adecuada, para luego colocarlo en la placa fría unos minutos.
- 5.2 Volver a colocar el bloque de parafina "frio" en el micrótomos y con una cuchilla nueva realizar los cortes, seleccionando la de mejor calidad.
- 5.3 Con ayuda de una pinza colocar el (los) corte(s) seleccionado en agua fría y con ayuda de una lámina portaobjeto recogerla y pasarlo al baño de flotación (a 50°C).
- 5.4 Recoger el corte del baño de flotación y dejar escurrir el agua, rotulando previamente la lámina.
- 5.5 Repetir el mismo proceso (desde 5.1 hasta 5.4) a los siguientes bloques que deseamos cortar.
- 5.6 Colocar las láminas en canastillas de coloración y llevarla a la estufa para el siguiente paso que es la coloración de láminas.

Observación:

Para más detalles revisar el Anexo 4: "MANEJO DEL MICRÓTOMO DE ROTACION".

6. Coloración y Montaje de Láminas:

Usaremos la coloración Hematoxilina-Eosina como coloración de rutina. (Ver preparación de colorantes en el Anexo 5).



Fecha: Enero 2019

Código : GP -001/ INSN-SB/
USDYT/SAP-V.02

Página 10 de 23



PERÚ

Ministerio
de Salud

INSTITUTO NACIONAL DE PATOLOGÍA
SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA



GUIA DE PROCEDIMIENTO: HISTOLOGIA - PROCESAMIENTO DE TEJIDOS

Procedimiento de Coloración Hematoxilina-Eosina

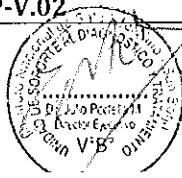
(Ver flujograma Anexo 6)

1. Colocar las láminas en estufa a 70°C durante 10 min.
 2. Desparafrinar en xilol 1 durante 30"
 3. Colocar las láminas en estufa a 70°C durante 10 min.
 4. Desparafrinar los cortes en el xilol 2 durante 5 minutos.
 5. Tratar los cortes en alcohol absoluto 1 durante 1 minuto.
 6. Tratar los cortes en alcohol absoluto 2 durante 1 minuto.
 7. Tratar los cortes en el alcohol 96° durante 2 minutos.
 8. Hidratar en agua corriente durante 1 minuto.
 9. Colorear con la hematoxilina de Harris durante 5 minutos. (tiempo empleado en nuestro servicio), Lavar en agua.
 10. Sumergir los cortes, rápidamente, 1 vez en el agua acida al 1%.
 11. Lavar inmediatamente con agua corriente.
 12. Sumergir los cortes, en solución de agua amoniacal al 1%, hasta que el tejido tome color azul oscuro(viraje).
 13. Lavar inmediatamente con agua corriente y verificar si los núcleos están bien teñidos observando al microscopio.
 14. Colorear con la solución de trabajo de eosina, durante 5 minutos (tiempo empleado en nuestro servicio).
 15. Sumergir los cortes 3 veces en el alcohol 96° N° 1.
 16. Sumergir los cortes 3 veces en el alcohol 96° N° 2.
 17. Sumergir los cortes 3 veces en el alcohol 96° N° 3.
 18. Sumergir los cortes 3 veces en el alcohol absoluto N° 1.
 19. Sumergir los cortes 5 veces en el alcohol absoluto N° 2.
 20. Tratar los cortes en el xilol N° 1 durante 1 minutos.
 21. Tratar los cortes en el xilol N° 2 durante 1 minutos.
 22. Montar en bálsamo de Canadá o entellán.
 23. Etiquetar la lámina con su respectivo código de muestra.
- Registrar en el cuaderno de histotecnología la cantidad de láminas, cortes, fecha de entrega y nombre del patólogo por cada código de muestra.
 - Entregar las láminas al patólogo que corresponde evaluar el caso.

Fecha : Enero 2019

Código : GP -001/ INSN-SB/
USDYT/SAP-V.02

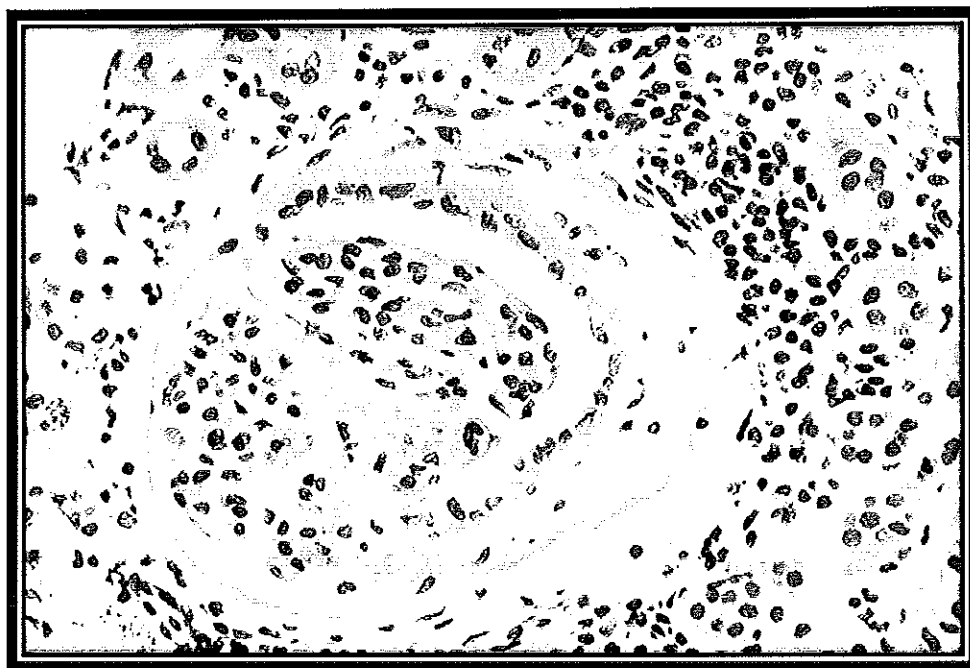
Página 10 de 23





GUIA DE PROCEDIMIENTO: HISTOLOGIA - PROCESAMIENTO DE TEJIDOS

RESULTADOS: Observar al microscopio. Las estructuras basófilas se observan de color azul y las estructuras eosinófilas de color rosado.



b. Indicaciones

1. Indicaciones Absolutas

- El estudio Anatomopatológico es solicitado por el médico especialista que remite la muestra del paciente (figura en cada solicitud), ya sea de sala de operaciones o de consultorio externo, como estudio complementario o también para precisar el diagnóstico definitivo.

2. Indicaciones Relativas

No aplica.

c. Riesgos o Complicaciones Frecuentes:

- Tomar las medidas de bioseguridad al manipular el formol, xilol, y demás soluciones tóxicas que representan un riesgo a la salud y medio ambiente.

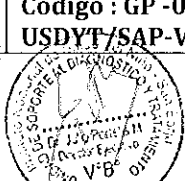
d. Riesgos o Complicaciones poco Frecuentes:

No aplica.

Fecha : Enero 2019

Código : GP -001/ INSN-SB/
USDYT/SAP-V.02

Página 12 de 23





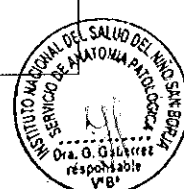
GUIA DE PROCEDIMIENTO: HISTOLOGIA - PROCESAMIENTO DE TEJIDOS

e. Contraindicaciones

No aplica.

VIII. RECOMENDACIONES

- Asegurar el correcto funcionamiento de los equipos solicitando a tiempo sus mantenimientos preventivos.
- Verificar el correcto funcionamiento del procesador de tejidos al momento de ponerlo en marcha, debe indicar la hora de inicio del programa y la fecha y hora de término del mismo.
- Verificar que la cantidad de casset enviados a procesamiento no sobre pase el nivel de solución de cada estación, por coordinación con los colegas T.M. del servicio el número máximo de casset para el volumen de solución en cada estación, es de 40 casset.
- Una cuchilla de mala calidad no permitirá obtener cortes adecuados.
- Un mal control del proceso de descalcificación conllevara a que la muestra pierda sus detalles celulares.
- Si se reciben muestras mal fijadas, o que ingresan al servicio de Anatomía Patológica en cualquier otra solución que no sea formol al 10%, salvo en casos de estudios de biopsias por congelación, deberá ser notificado y anotado en la orden de estudio.
- Para muestras que contengan tejido adiposo (mama, lipomas, etc.) se deberá dejar impregnando en parafina por un par de horas más.
- Las muestras óseas deberán ser fijadas por más tiempo para luego ser sometidas a descalcificación, esto es previo al procesamiento de tejidos.
- No ingresar a procesamiento muestras representativas de más de 3 mm de grosor ya que en estos casos el procesamiento será limitado dando como resultados tejidos mal procesados.
- Cambiar periódicamente a criterio del Tecnólogo Medico, las soluciones de cada estación del procesador de tejidos





GUIA DE PROCEDIMIENTO: HISTOLOGIA - PROCESAMIENTO DE TEJIDOS

IX. AUTORES, FECHA Y LUGAR

- **Nombre del Autor:**

Lic. T.M. Randoll Andrei Carbajal Quispe

rcarbajal@insnsb.gob.pe

- **Fecha y lugar:**

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

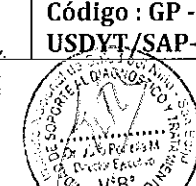
- **Vigencia:**

2 años a partir de su aprobación.

Fecha: Enero 2019

Código : GP -001/ INSN-SB/
USDYT/SAP-V.02

Página 14 de 23





PERÚ

Ministerio
de Salud

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DEL NIÑO
SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA



GUIA DE PROCEDIMIENTO: HISTOLOGIA - PROCESAMIENTO DE TEJIDOS

X. ANEXOS

ANEXO 1:

Fijador simple

Solución de formol al 10%

Formol comercial al 37-40%	1 vol.
Agua corriente	9 vol.

Fijadores compuestos o mezclas fijadoras

Líquido de Zenker

Dicloruro de mercurio	5.0 g
Dicromato de potasio	2.5 g
Agua corriente	100.0 mL
Ácido acético glacial	5.0 mL

Líquido de Bouin

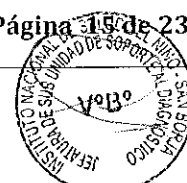
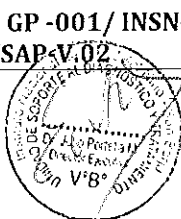
Solución acuosa de ácido pícrico saturada	15 vol.
Formol comercial al 37-40%	5 vol.
Ácido acético glacial	1 vol.

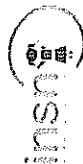
Líquido de Regaud

Dicromato de potasio al 3%	80.0 mL
Formol comercial al 37-40%	20.0 mL

Líquido de Da Fano

Nitrato de cobalto	1,0 g
Agua destilada	100,0 mL
Formol comercial	15,0 mL





GUIA DE PROCEDIMIENTO: HISTOLOGIA - PROCESAMIENTO DE TEJIDOS

ANEXO 2

- Ver en la columna central "Programación"

Fonctionnement manuel!
Mouvements du carrousel!

☐ Faire monter le carrousel!

☐ Faire descendre le carrousel!

☐ Si l'écran affiche W01/W02/W03, la paraffine dans un pot de paraffine (station 10/11/12) risque de ne pas être entièrement liquéfiée.

Pour étendre le code d'avertissement appuyer sur une touche quelconque.

☐ Le transport du panier dans un pot de paraffine ou le prélèvement sont bloqués. Vérifiez si la paraffine est entièrement liquéfiée!

Pour faire monter le carrousel

Pour faire descendre le carrousel

Transport du panier au poste suivant

Mouvement de va-et-vient du carrousel!

Mise en/hors fonction du mouvement de va-et-vient du carrousel!

Fonction de vide (option)

☐ Mise en/hors fonction de la fonction de vide

Neutralisation de la fonction des touches

Pour activer la neutralisation appuyer 5 secondes environ sur la touche

Pour désactiver la neutralisation appuyer 5 secondes environ sur la touche

Programation

☐ 1 Appeler le mode de programmation

☐ 2 Sélectionner le numéro du programme

☐ 3 Changement du nombre de paniers

☐ 4 Sélectionner le numéro du poste

☐ 5 Activer/désactiver la fonction de vide (option) pour le poste sélectionné

☐ 6 Saisir la durée d'immersion du panier dans le poste:

Pour sauter un poste, mettez la durée de passage du panier sur 0 h 00.

Saisie des heures

Saisie des minutes

Pour saisir les paramètres pour tous les autres postes, répétez les pas 4 à 6 pour chaque poste.

☐ 7 Afficher la durée totale du programme

☐ 8 Quitter l'affichage

☐ 9 Quitter le mode de programmation

Leica Microsysteme Nussloch GmbH · Heidelberg Str. 17 · 19 · D-69226 Nussloch · Allemagne · Téléphone: (0 62 24) 143-0 · Télécopieur: (0 62 24) 143-28

TP1020 V 2.0 Français · 0398 BK

LEICA TP 1020 - Mode d'emploi

Leica

ANEXO 3: Ver “Lanzamiento de ciclo” en la columna izquierda.

Lancement du cycle de traitement

Lancer le processus de traitement

Choisir le programme

Démarrage immédiat

Démarrer le programme

Démarrage en différé

Entrer l'heure de démarrage

Saisie du jour de démarrage

Saisie des heures

Ignorer le code et démarrer le traitement.

Le traitement est alors interrompu irrégulièrement.

Arrêt d'urgence/arrêt définitif d'un cycle en cours

Arrêt immédiat

Continuer le traitement

Le traitement automatique reprend conformément au programme en cours

Arrêt définitif du cycle de traitement

Le traitement est alors interrompu irrégulièrement.

Fin d'un cycle automatique

L'écran affiche 'DONE' (terminé) et la position du panier. L'affichage est accompagné d'un signal acoustique se répétant toutes les 30 secondes.

Pour accusé réception du message et éteindre le signal acoustique appuyer sur une touche quelconque. On peut alors procéder à prélever les échantillons en mode manuel

TP1020 V2.0 Français - 02/98 BX

LEICA TP 1020 - Mode d'emploi

Leica Microsystems Nussloch GmbH · Heidelberg Str. 17-19 · D-69226 Nussloch · Allemagne Téléphone: 0 62 24 143-0 Télécopieur: 0 62 24 143-226

Leica





GUIA DE PROCEDIMIENTO: HISTOLOGIA - PROCESAMIENTO DE TEJIDOS

RESUMEN DEL PROCESAMIENTO DEL TEJIDO O MUESTRA


Someter las piezas de tejido, ya colocados en sus casetes respectivos al procesador automático de tejidos, en la secuencia respectiva:

Solución:	Tiempo
1. Formol	hasta empezar el procesamiento.
2. Agua destilada	30 min
3. Etanol al 96°	1 hora
4. Etanol al 96°	1 hora
5. Etanol al 96°	1 hora
6. Etanol absoluto	1 hora
7. Etanol absoluto	1 hora
8. Etanol absoluto	1 hora
9. Xilol 1	1 hora
10. Xilol 2	1 hora
11. Parafina (a 60°) 1	1 hora
12. Parafina (a 60°) 2	1 hora



GUIA DE PROCEDIMIENTO: HISTOLOGIA - PROCESAMIENTO DE TEJIDOS

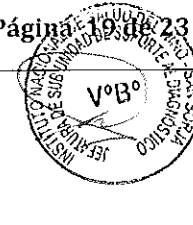
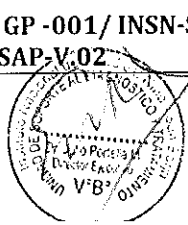
ANEXO 4

		FORMULARIO N°
		INSTRUCTIVO DE TRABAJO
		Página 1 de 3
<p align="center">"MANEJO DEL MICROTOMO DE ROTACION"</p>		
CODIGO INTERNO	CODIGO DE INVENTARIO	Ubicación
		LABORATORIO DE HISTOLOGIA
<ol style="list-style-type: none"> 1. Asegurar de que el área alrededor del micrótopo se encuentre despejada para poder ejecutar adecuado manejo del equipo. 2. Encender con el botón de la parte posterior, izquierda-abajo del equipo en "ON", esperar que inicie, y verificar que este en modo bloqueado. en la pantalla saldrá "STOP". 3. Se desbloquea y bloquea todo el sistema presionando o jalando el boto rojo del lado derecho arriba o también en la parte inferior subiendo o bajando una pequeña palanca. el indicador es que aparezca STOP en la pantalla. 4. Verificar que el portacuchillas este libre y que no haya ningún residuo de parafina del trabajo del día anterior. 5. Colocar la cuchilla que está en uso, en su respectiva portacuchillas deslizándola de manera horizontal centrarla y fijarla haciendo uso de la palanca respectiva. tener mucho cuidado al colocar la cuchilla. 6. Colocar el bloque de parafina ya enfriado en el portabloques, ajustar con la palanca que está arriba del portabloques y orientar. 7. Desbloquear el sistema (como indica en el ítem 3.) para empezar a trabajar los bloques de parafina, 8. Con ayuda del panel del lado izquierdo, presionando el botón negro giratorio de arriba para cambiar y seleccionar el espesor tanto de desgaste (DESB) 20um – 30um, como de obtención de cortes (FINO) 3.5um – 4.5um. 9. Seguidamente con ayuda del panel del lado izquierdo usar el botón giratorio negro pequeño para acercar el bloque al ras de la cuchilla sin que tengan contacto. 10. Seguidamente con ayuda del panel del lado izquierdo, usar el botón negro giratorio de abajo para seleccionar la velocidad de corte. 11. Una vez que este todo listo Empezar el trabajo de desgaste del bloque y posterior obtención de cortes, (como se indica en el ítem 8.) presionando en el panel el botón "STAR/STOP" – 2 VECES PARA QUE CORTE Y UNA VES PARA DETENER. 12. Recoger los cortes finos con ayuda de una pinza adecuada, colocarlos al baño de flotación, recogerlos en una lámina portaobjetos, ROTULAR y dejar escurrir la lámina de manera vertical para su posterior proceso de desparafinado y coloración. bloquear el sistema como indica en el ítem 3. 13. Retirar el bloque ya procesado y colocar el siguiente bloque (<i>repetir los pasos del 6 al 12</i>) usando la misma cuchilla o cambiarla por una nueva si ve que no se obtienen buenos cortes debido al desgaste de la cuchilla en uso. 		

Fecha : Enero 2019

Código : GP -001/ INSN-SB/
USDYT/SAP-V-02

Página 19 de 23





GUIA DE PROCEDIMIENTO: HISTOLOGIA - PROCESAMIENTO DE TEJIDOS

ANEXO 5

Solución colorante de hematoxilina de Harris o hemalumbre de Harris

Hematoxilina (C.I. 75290)	5,0 g
Alcohol corriente 95%	50,0 mL
Sulfato doble de aluminio y potasio o sulfato doble de aluminio y amonio	100,0 g
Agua corriente	1000,0 mL
Oxido mercurico rojo o amarillo	2,0 g

Disolver la hematoxilina en el alcohol, el alumbre (sulfato doble) en el agua con ayuda del calor. Mezclar las dos soluciones. Llevar la mezcla a ebullición tan rápido como sea posible, luego sacarla del calor y adicionar el óxido mercurico. Recalentar la mezcla, hasta que tenga un color púrpura oscuro, cerca de 1 minuto. Luego retirar del calor y enfriar rápidamente. La solución está lista para ser usada.

Solución de alcohol ácido al 1%

Alcohol al 70% c.s.p.	100,0 mL
Ácido clorhídrico	1,0 mL

Solución de agua amoniacal al 3‰

Agua corriente c.s.p	1000,0 mL
Amoniaco o hidróxido amónico	3,0 mL

Solución stock de eosina acuosa al 1%

Eosina amarilla (C.I. 45380)	10,0 g
Agua corriente	1000,0 mL
Disolver y adicionar:	
Ácido acético glacial	2,0 mL

Solución colorante de trabajo de eosina

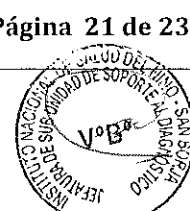
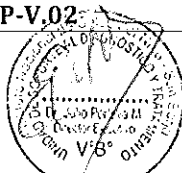
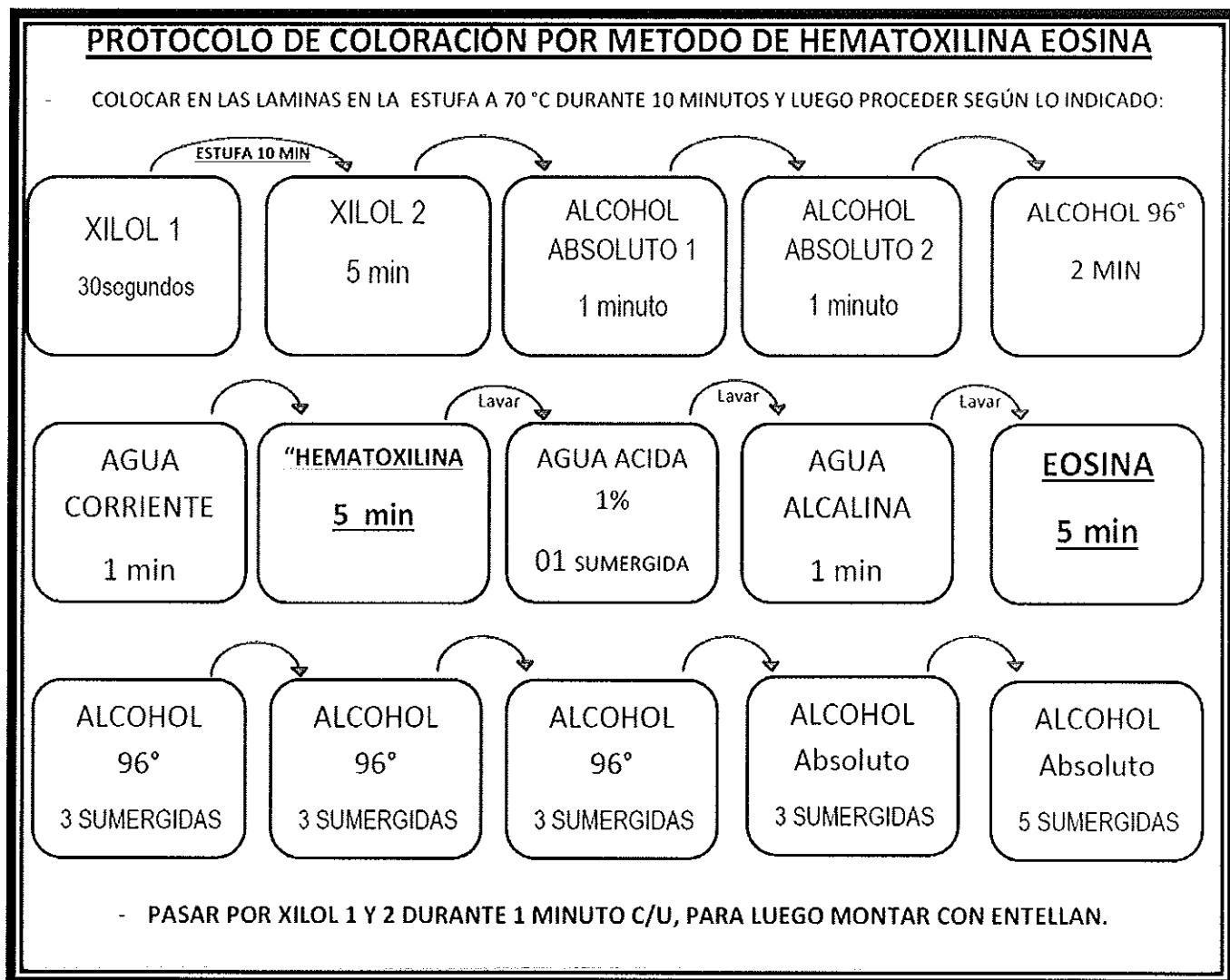
Solución stock de eosina acuosa al 1%	1 vol.
Alcohol al 80%	3 vol.
Adicionar 0,5 mL de ácido acético glacial por cada 100,0 mL.	

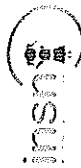


GUIA DE PROCEDIMIENTO: HISTOLOGIA - PROCESAMIENTO DE TEJIDOS

ANEXO 6

Flujograma en el proceso de coloración H y E.

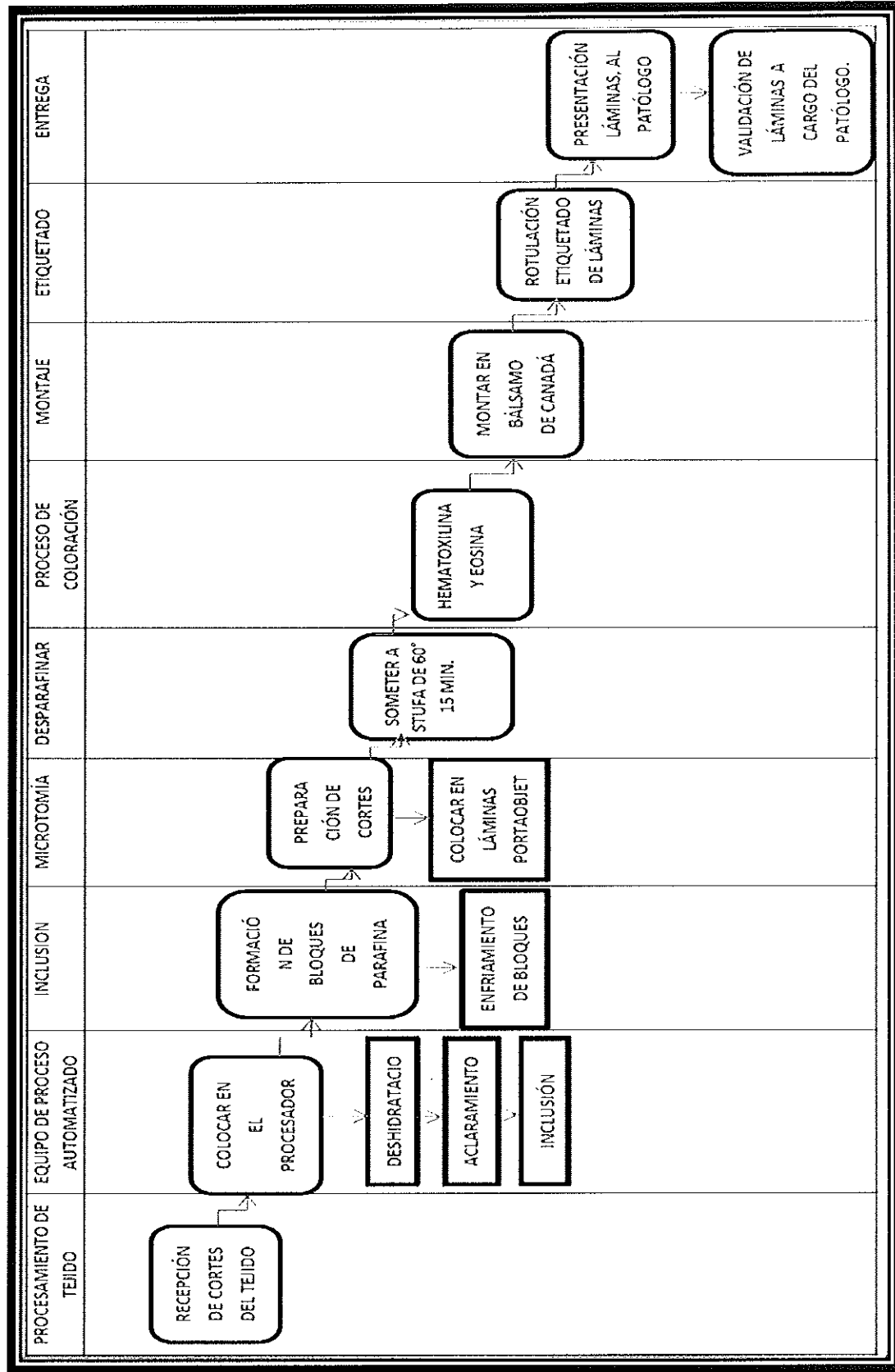




GUIA DE PROCEDIMIENTO: HISTOLOGIA - PROCESAMIENTO DE TEJIDOS

ANEXO 7

Flujograma de procesamiento de tejidos





XI. BIBLIOGRAFÍA

1. Montalvo Arenas C, Técnica histológica, universidad autónoma de México. 2010 [revista en Internet] 2010 [acceso 02 de mayo de 2018]. Disponible en https://www.academia.edu/11913746/T%C3%89CNICA_HISTOL%C3%93GICA_C%C3%89SAR_EDUARDO_MONTALVO_ARENAS_Agosto_de_2010
2. Martínez Rodríguez R, Gragera Martínez R. Fundamentos teóricos y prácticos de la histoquímica, Editorial CSIC - CSIC Press, 1/1/2008. [Internet]. Madrid, 2008 [citado 02 de mayo 2018]. 784 p. Recuperado a partir de: <https://editorial.csic.es/publicaciones/libros/11444/978-84-00-08672-5/fundamentos-teoricos-y-practicos-de-la-histoquimic.html>
3. Vicar Díaz N. Manual de Procedimientos de Anatomía Patológica. Quito, Ecuador 2010.
4. Panizo, M.D. Lozano y M.A. Idoate. Departamento de Anatomía Patológica, Clínica Universitaria, Universidad de Navarra, Pamplona, España.
5. Gonzalves Caputo L. Métodos para la formación de Profesionales en laboratorio de la Salud. Técnicas Histológicas. Capítulo 3.
6. Carlosama-Rosero, Reyes N, Rolón M., Rosero E. Biopsia por congelación: recomendaciones en la práctica clínica y dermatológica. [revista en Internet] 2014 [acceso 02 de mayo 2018]; 18(2). Disponible en <http://www.scielo.org.co/pdf/rcc/v18n2/v18n2a07.pdf>
7. Delgado JA. Realidad en biopsias por congelación. Universitas Médica. 2007; 48:37-45. Rev. Colombiana de Cancerología. Vol. 18. Núm. 02. Junio 2014.

