



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

---

---



**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**TOMA DE MATERIAL BIOLÓGICO PARA SU  
PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO Y TINCCIONES  
ESPECIALES.**

**TESINA**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**CIRUJANA DENTISTA**

**P R E S E N T A:**

**MARIANA ZÚÑIGA GARCÍA**

**TUTOR: Dr. LUIS ALBERTO GAITÁN CEPEDA**

MÉXICO, Cd. Mx.

**2023**

Claudia Mejía



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## DEDICATORIAS

A mi misma por no rendirme, por llegar a la meta.

A mi mamá Ana, todo lo que soy y lo que tengo es gracias a ti, este logro es tanto mío como tuyo, gracias por nunca dejarme caer, por limpiar mis lágrimas cuando no podía más y hacer que confiara en mi misma.

A mi papá Francisco, por permitirme estudiar esta carrera, por ser mi paciente mas veces de las que puedo recordar, por todo el apoyo y las palabras de aliento, este logro también es tuyo

A mi hermano, por apoyarme, por prestarse a ser mi paciente, aunque representara todo un reto para él, por acompañarme, por ser mi confidente y por apoyarme siempre.

A Daniel, por hacer que el paso por la carrera tomara una perspectiva diferente, por ser mi amigo y por mantenerse.

A Jimena y a Dennis fueron parte importante en esta travesía, aligeraron el viaje y lo agradeceré siempre.

A Karly, a Ferghie, a Sandy, sin ustedes no hubiera sobrevivido la carrera y todo el proceso que viene después de eso, agradezco que sean mis amigas y podamos compartir esta profesión.

A todas las personas que depositaron su confianza en mi al ser mis pacientes, estoy eternamente agradecida.

## Contenido

<b>FACULTAD DE ODONTOLOGÍA</b> .....	1
<b>QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE</b> .....	1
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	7
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	8
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	9
<b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	10
<b>OBJETIVO ESPECÍFICO</b> .....	10
<b>CAPITULO 1</b> .....	11
<b>HISTORIA CLÍNICA</b> .....	11
1.- Datos personales .....	11
2.-Motivo de la consulta .....	11
3.- Antecedentes médicos .....	12
4.- Antecedentes familiares .....	12
5.- Exploración física por sistemas .....	12
A) Sistema nervioso .....	12
b) Sistema gastrointestinal .....	12
c)Sistema genitourinario .....	13
d) Sistema endocrino .....	13
e)Extremidades y en el aparato locomotor .....	13
6. Examen físico general .....	13
Signos vitales .....	14
7. Examen estomatológico .....	14
A. Cráneo .....	14
B. Cabeza .....	15
C. Cuero cabelludo .....	15
D. Cara.....	15
E. Vista lateral de cabeza y cara .....	15
F. Submandibular .....	16
G. Labios .....	16
H. Vista anterior .....	16
Intraoral .....	17
A. Vestíbulo .....	17
B. Paladar.....	17
C. Orofaringe .....	17
E. Piso de la boca .....	18
D. Dientes .....	18
F. Oclusión.....	18
8. Exámenes complementarios.....	18
9.- Plan de tratamiento.....	18
<b>FORMATO DE HISTORIA CLINICA</b> .....	19
<b>CAPITULO 2</b> .....	26
<b>BIOPSIA/MATERIAL BIOLÓGICO</b> .....	26
<b>Indicaciones de la biopsia</b> .....	26
<b>Cuidados quirúrgicos en un procedimiento de biopsia</b> .....	26
<b>Tipos de biopsias</b> .....	27
a. “Excisional.....	27
b. Incisional.....	27
Se usa cuando la lesión es grande, se toma una parte significativa y se deja el resto de la lesión.” <sup>18</sup> .....	27

c. Citología por aspiración (punción aspiración con aguja fina – PAAF).....	27
d. “Sacabocado”.....	28
Implica el uso de instrumentos quirúrgicos para extraer una pequeña sección de tejido para obtener una muestra profunda. ....	28
e. Curetaje .....	28
f. Frotis.....	28
g. Biopsia por congelación .....	28
h. Citología .....	28
i. Citología exfoliativa.....	28
<b>TOMA DE MATERIAL BIOLÓGICO .....</b>	<b>28</b>
<b>Material e instrumental.....</b>	<b>29</b>
<b>Anestesia .....</b>	<b>30</b>
<b>Estabilización del tejido biopsiar.....</b>	<b>30</b>
<b>Incisión.....</b>	<b>30</b>
<b>ROTULACIÓN, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTACIÓN DE LA MUESTRA .....</b>	<b>31</b>
<b>INFORME DEL EXAMEN DE PATOLOGÍA .....</b>	<b>32</b>
a) Descripción macroscópica.....	32
b) Descripción microscópica.....	32
c) Diagnóstico.....	32
<b>PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO.....</b>	<b>33</b>
<b>CAPÍTULO 3 .....</b>	<b>36</b>
<b>PROCESAMIENTO DE TEJIDOS: .....</b>	<b>36</b>
<b>DESHIDRATACIÓN, ACLARAMIENTO, E INFILTRACIÓN .....</b>	<b>36</b>
<b>ESQUEMA CORTO .....</b>	<b>37</b>
<b>ESQUEMA NOCTURNO.....</b>	<b>37</b>
<b>Se realiza con el histoquinette .....</b>	<b>37</b>
<b>Según Raimundo García del Moral <sup>23</sup>.....</b>	<b>38</b>
<b>MÉTODO PARA EL REPROCESAMIENTO DE TEJIDOS .....</b>	<b>38</b>
<b>DESCALCIFICACIÓN Y REBLANDECIMIENTO TISULAR.....</b>	<b>38</b>
<b>Descalcificación química.....</b>	<b>38</b>
<b><i>PREPARACIÓN DE DESCALCIFICANTE .....</i></b>	<b>39</b>
<b>PROCEDIMIENTO .....</b>	<b>39</b>
<b>CAPÍTULO 4 .....</b>	<b>40</b>
<b>INCLUSIÓN .....</b>	<b>40</b>
<b>ORIENTACIÓN DEL ESPÉCIMEN .....</b>	<b>40</b>
<b>CONSIDERACIONES GENERALES.....</b>	<b>40</b>
<b>ESTRUCTURAS TUBULARES.....</b>	<b>40</b>
<b>SUPERFICIES EPITELIALES .....</b>	<b>41</b>
<b>MÚLTIPLES ESPECÍMENES.....</b>	<b>41</b>
<b>ESPECÍMENES GRANDES Y SÓLIDOS .....</b>	<b>42</b>
<b>ESTRUCTURAS QUÍSTICAS .....</b>	<b>42</b>
<b>IDENTIFICACIÓN DE MÁRGENES Y SUPERFICIES .....</b>	<b>42</b>
<b>PROCESO TÉCNICO DE INCLUSIÓN EN PARAFINA.....</b>	<b>43</b>
<b>EQUIPO PARA LA INCLUSIÓN .....</b>	<b>46</b>
<b>Moldes de inclusión de acero inoxidable.....</b>	<b>46</b>
<b>8 .....</b>	<b>47</b>
<b>Moldes plásticos .....</b>	<b>47</b>
<b>CAPÍTULO 5 .....</b>	<b>48</b>

<b>MICROTOMIA</b> .....	48
<b>Microtomo de rotación automático</b> .....	48
<b>Microtomo de rotación semiautomático</b> .....	49
<b>CUCHILLAS PARA EL MICROTOMO</b> .....	49
<b>OBTENCIÓN DE LOS CORTES</b> .....	50
<b>PROBLEMAS DURANTE EL PROCESO DE CORTE Y SUS POSIBLES CAUSAS</b> .....	52
1. <b>CINTAS CORTADAS O RASGUÑOS LONGITUDINALES</b> .....	52
2. <b>SECCIONES GRUESAS Y DELGADAS</b> .....	53
3. <b>COMPRESIONES Y ARRUGAS</b> .....	53
4. <b>RASGUÑOS, LÍNEAS, O SEPARACIONES EN PARTE DE LA SECCIÓN</b> .....	54
5. <b>SECCIONES EN TAMAÑO DESIGUAL</b> .....	54
6. <b>CINTAS DESIGUALES O TORCIDAS</b> .....	55
7. <b>HUECOS O SECCIONES CON ÁREAS GRUESAS Y DELGADAS</b> .....	55
8. <b>SECCIONES INCOMPLETAS, SECAS O ROTAS</b> .....	56
9. <b>CINTAS QUE NO SE FORMAN</b> .....	56
<b>EXTENSIÓN Y ADHESIÓN DE LOS CORTES AL PORTAOBJETOS</b> .....	56
<b>CAPÍTULO 6</b> .....	59
<b>COLORACIÓN O TINCIÓN</b> .....	59
<b>a) Teoría física</b> .....	59
Considera la tinción como un proceso de adsorción, ya que los colorantes entran en los espacios intercelulares y se mantienen unidos debido a la cohesión molecular .....	59
<b>b) Teoría química</b> .....	59
Clasificación de los colorantes .....	59
Colorantes naturales .....	59
1) Animales .....	60
2) Vegetales .....	60
Colorantes artificiales o sintéticos .....	60
Ácidos .....	60
Básicos .....	60
Neutros .....	61
Indiferentes .....	61
Clasificación de las coloraciones .....	61
<b>a) Coloración directa o sustantiva</b> .....	61
<b>b) Coloración indirecta o adjetiva</b> .....	61
<b>c) Coloración progresiva</b> .....	61
<b>d) Coloración regresiva</b> .....	61
<b>e) Coloración simple</b> .....	62
<b>f) Coloración compuesta o combinada</b> .....	62
Simultánea .....	62
Sucesiva .....	62
<b>g) Coloración ortocromática</b> .....	62
<b>h) Coloración monocromática</b> .....	63
<b>i) Coloración pancromática</b> .....	63
<b>ESTACIÓN DE TINCIÓN AUTOMÁTICA/ AUTOSTAINER</b> .....	64
<b>TINCIONES</b> .....	65
<b>HEMATOXILINA Y EOSINA</b> .....	65
Oxidación de la hematoxilina .....	65

<b>Hematoxilina-eosina (H&amp;E)</b> .....	66
<b>TINCIONES ESPECIALES</b> .....	68
Métodos tricrómicos.....	68
<b>TRICRÓMICA DE MASSON</b> .....	69
<b>PASS- SCHIFF</b> .....	71
Método para mucina, hongos, amibas, glucoproteínas.....	71
<b>VAN-GIESON</b> .....	73
<b>Técnica para colágena y músculo</b> .....	73
<b>AZUL ALCIANO</b> .....	74
Método para Mucosustancias Ácidas.....	74
<b>PAS-AZUL ALCIANO</b> .....	75
Método para mucosustancias ácidas y neutras.....	75
<b>GROCOTT</b> .....	76
Método para hongos.....	76
<b>PAPANICOLAOU</b> .....	78
Método para citología exfoliativa.....	78
<b>CAPÍTULO 7</b> .....	80
<b>MEDIOS DE MONTAJE</b> .....	80
<b>COBERTURA DE LAMINILLAS</b> .....	80
<b>RESTAURACIÓN Y REPARACIÓN DE LAMINILLAS</b> .....	80
Remoción de cubreobjetos.....	80
Retención.....	81
<b>CAPÍTULO 8</b> .....	82
<b>SECCIONES POR CONGELACIÓN</b> .....	82
Temperatura.....	82
Adhesivos para las secciones.....	82
Técnica de corte.....	82
<b>TINCIÓN</b> .....	83
<b>CAPÍTULO 9</b> .....	85
<b>ESTUDIOS ESPECIALES</b> .....	85
<b>INMUNOHISTOQUÍMICA</b> .....	85
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	86

## INTRODUCCIÓN

La **Patología Bucal** es una especialidad odontológica fundamentada en la Anatomía Patológica y la Medicina Interna; encargada de estudiar la etiología, mecanismos fisiopatológicos y las consecuencias de las enfermedades que se desarrollan y manifiestan en la región bucal y maxilofacial, siendo la base para el tratamiento y manejo de las mismas.

Las competencias del Patólogo Bucal en el campo médico-odontológico incluyen:

- Diagnóstico de patologías de cabeza y cuello.
- Diagnóstico de imagenología a través de la interpretación de estudios anexos (Radiografías, tomografías, resonancia magnética.)
- Diagnóstico de citologías
- Diagnóstico a través de estudios histopatológicos
- Diagnóstico por medio de inmunohistoquímica y PCR

El cáncer oral representa el 3% de todos los cánceres detectados al año, por lo que un diagnóstico precoz precisa los factores pronósticos más importantes, siendo labor fundamental de los odontólogos, por lo que la elaboración de una guía y el conocimiento de sus fundamentos impacta en un diagnóstico temprano y certero de dichas lesiones.

El apoyo mediante estudios histopatológicos es pieza fundamental en el diagnóstico de patologías bucales.

Un correcto abordaje quirúrgico para la toma de biopsia, así como el manejo adecuado de la pieza, permitirá un correcto procesamiento de este.



## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El odontólogo debe asegurarse de prevenir, diagnosticar y dar tratamiento a lesiones, neoplasias y alteraciones bucales al tratar con sus pacientes.

Debe poseer la habilidad de realizar un buen examen oral para poder detectar anomalías de manera temprana. En algunas ocasiones, aunque la lesión sea visible o no es complicado ofrecer un diagnóstico certero, debido a esto, el odontólogo debe apoyarse con estudios diagnósticos como radiografías e incluso estudios histopatológicos.

Este tipo de estudios juegan un papel muy importante en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento, ya que determinan el tipo de lesión y en qué estadio se encuentra (en caso de que resulte maligno). El diagnóstico definitivo se obtiene a partir del estudio histopatológico, aunque existen otras circunstancias en las que se necesitan de estudios especiales para determinar con exactitud de qué patología se trata.

Para realizar un estudio histopatológico se requiere la toma una biopsia.

Muchas veces el Odontólogo únicamente se encarga de la obtención adecuada de la muestra que será enviada a estudio histopatológico, coloca la muestra en un frasco con formol y espera a que le sea devuelto el resultado del estudio; es decir el diagnóstico. Por ello es importante que el odontólogo conozca el proceso por el cual pasa dicha muestra, las distintas tinciones existentes para dichos estudios, tanto las de rutina y las especiales.

Al notar que será necesario realizar una toma de biopsia, el odontólogo podrá preguntarse ¿Cuál es la guía para la toma de biopsia y su procesamiento histopatológico en la práctica odontológica?

## JUSTIFICACIÓN

Resulta primordial para el Cirujano dentista conocer y comprender el procesamiento de material biológico, pues facilita la planeación del procedimiento.

Así como del tipo de obtención de biopsia que realizará el odontólogo, el tipo de estudio a solicitar y la facilidad de interpretar dichos resultados.

El propósito de esta guía es aportar al dentista de práctica general un Panorama de las diversas técnicas para tomar material biológico. Al contar con este tipo

de información mejoraría el diagnóstico temprano, evitando así el descubrimiento tardío de algunas patologías, permitirá al odontólogo prevenir y mejorar la calidad de vida de un paciente al conocer el diagnóstico certero y el estadio en el que se encuentra.

Permitirá que todos y cada uno de los pasos requeridos de la toma de biopsia y la técnica histológica sean realizados correctamente en su totalidad, garantizando así, que los resultados del estudio histopatológico sean satisfactorios ya que no se presentaran problemas tales como una mala toma de tejido, mal procesamiento, agilizará el proceso y lo capacitará por medio de esta guía a tomar de manera correcta el material biológico, su transportación y el procesamiento por el que pasa el material biológico hasta obtener una laminilla.

## **OBJETIVO GENERAL**

Desarrollar una guía para una correcta toma de biopsia y su adecuado procesamiento histopatológico.

## **OBJETIVO ESPECÍFICO**

Elaborar una guía para el odontólogo, donde se integren las fases para la toma de muestra y procesamiento en el laboratorio paso por paso.

# CAPITULO 1

## HISTORIA CLÍNICA

La historia clínica es un documento hecho de datos médicos de una persona. Es un historial de los estados de enfermedad y salud del paciente.

Describe con detalle la información personal del paciente y su evolución de un estado de salud a enfermedad o viceversa. Se obtiene directamente interrogando al paciente o por medio de notas médicas de otras especialidades que ha visitado el paciente.

Objetivos de la historia clínica

- Obtener información verídica del estado de salud-enfermedad del paciente.
- Poder acceder a este documento, antes, durante o después de la visita del paciente.
- Conocer las enfermedades que ha tenido y como han sido tratadas.
- Dar seguimiento al paciente después de un tratamiento.
- Contar con una recopilación de exámenes previos, diagnósticos y sus planes de tratamiento.<sup>1,4</sup>

La historia clínica está compuesta por las siguientes partes:

### **1.- Datos personales**

Nombre completo, edad, sexo, estado civil, peso, ocupación. Debe contarse con un número de contacto al que pueda llamarse en caso de emergencias.

### **2.-Motivo de la consulta**

El paciente explica el motivo de su visita, ya sea dolor, molestia, presencia de cuerpos extraños, etc.<sup>1,4</sup>

### **3.- Antecedentes médicos**

El paciente debe informar si ha padecido enfermedades, si ha tenido cirugías, alergias o cualquier dato en el que su salud haya estado comprometida.

### **4.- Antecedentes familiares**

En este punto se mencionan todas las patologías que padece su familia directa.

### **5.- Exploración física por sistemas**

Visión completa de la salud del paciente, se conoce la presencia de algunos otros malestares para correlacionar y llegar a un diagnóstico. Se debe revisar teniendo una secuencia: Comenzando por la Cabeza, seguido de los ojos, los oídos, la nariz, la boca, la garganta, el cuello, y después partimos por sistemas cardio respiratorio, sistema gastrointestinal, sistema genitourinario, sistema locomotor, sistema neuromuscular, sistema neuropsiquiátrico, piel y anexos.<sup>1,4</sup>

#### **A) Sistema nervioso**

Se debe utilizar un objeto que permita valorar la sensibilidad, evaluando las tres ramas del V par craneal. Después se debe evaluar la función motora observando la función masticatoria; valorando la presencia de: Mareo, desmayo, pérdida momentánea del estado de alerta, dificultad para dormir, convulsiones, dolor de cabeza, dolor neuropático, pérdida del sentido del gusto, olfato, vista, pérdida de fuerza y sensibilidad.<sup>1,4</sup>

#### **b) Sistema gastrointestinal**

La exploración física comienza con la revisión de la orofaringe evaluando la hidratación, úlceras o posible inflamación.

Con el paciente acostado a simple vista debe observarse si el paciente presenta inflamación. Después, se evalúa por medio de auscultación y percusión para descartar la presencia de dolor abdominal, borborigmo, distensión abdominal o la sospecha de la existencia de masas.<sup>1,4</sup>

### **c) Sistema genitourinario**

Se corroborará preguntando al paciente si tiene problemas o molestias al orinar, se debe valorar si hay secreción, hematuria, prurito, masas, alteración en la cantidad orina, dolor al orinar, orina color negro, orina fétida, alteraciones en la menstruación y sus manifestaciones, cambios en los senos, todo esto con ayuda de estudios o bien interconsulta con un especialista si requiriera el caso.

### **d) Sistema endocrino**

Se valora mediante estudios de sangre comúnmente, cuantificando las concentraciones hormonales normales que el paciente debería presentar, en caso de alguna anomalía el médico tratante podrá notarlo.

### **e) Extremidades y en el aparato locomotor**

Observando a simple vista facies, marchas y piel para descartar la presencia de edemas, tics, cambios de color la piel, ruidos articulares, inflamación en las articulaciones, dolor en las articulaciones <sup>1,4</sup>

## **6. Examen físico general**

Ojos: El paciente debe mencionar si ha presentado cambios en la agudeza visual, dolor o secreciones.

Oídos: Pérdida de audición, cerumen, dolor, secreción, percepción permanente de un sonido y vértigo.

Nariz: Preguntar al paciente si ha presentado alteraciones del olfato, dolor, escurrimiento nasal

Boca: ausencia de saliva, mal aliento, sangrado, anormalidad en mucosas y en los dientes y huesos(en este caso por medio de una radiografía), cambios del gusto, ardor, dolor al abrir o cerrar, o al masticar.

Piel: Debe ser revisada la temperatura, si esta hidratada y no tiene alguna alteración.

Un examen físico exhaustivo no se sugiere siempre, se debe dar prioridad al sistema comprometido.

Aspecto general: La primera impresión que se tiene del paciente, observar las expresiones que realiza, si se ve hidratado, buena higiene personal, que aspecto

nutricional tiene, su coordinación, marcha, si tiene buena memoria, si se orienta, que lenguaje maneja, estado de alerta, capacidad auditiva, personalidad.

### **Signos vitales**

Frecuencia cardiaca: Se deben contabilizar cuantos latidos hay en un minuto.

Frecuencia respiratoria: Se mide al contar el número de elevaciones torácicas de un paciente en un minuto, los valores normales son entre 12 -16 respiraciones por minuto.

Temperatura: La temperatura se mide con un termómetro y se puede colocar en axila, en esta zona su valor normal es de 36.5°C, en boca con un valor normal de 37°C y en el recto con un valor de de 37.5°C.

Presión arterial: Se mide por medio de un baumanometro y puede presentar distintos valores: <sup>1,4</sup>

VALOR	ESTADIO
<120/80	NORMAL
120-139/80-89	PREHIPERTENSIÓN
140-159/90-99	HTA Estadio I
≥160/100	HTA Estadio II

## **7. Examen estomatológico**

Extraoral: Se examina la cara, la cabeza y el cuello.

### **A. Cráneo**

1. Se clasifica según su forma en:

- a. Dolicocéfalo
- b. Braquicéfalo
- c. Mesaticéfalo o mesocéfalo.

2. Se debe revisar la simetría, tamaño y relación que tiene la cabeza con el resto del cuerpo.

## **B. Cabeza**

Se debe observar la expresión facial y el aspecto general. La posición que tienen los ojos, las orejas, la nariz, la boca, la piel y el cabello. Evaluar la simetría y si presenta deformidades. Después se realiza la palpación de las superficies óseas.

No debe olvidarse examinar los ganglios que están en la cabeza y la cara.

## **C. Cuero cabelludo**

Examinar cantidad y textura del cabello, la implantación, si hay presencia de heridas o cicatrices, inflamaciones o tumoraciones.

## **D. Cara**

Revisar el color de la piel, si hay presencia de cicatrices, acné, etc.

## **E. Vista lateral de cabeza y cara**

Articulación temporomandibular Examine la ATM en reposo y durante el ejercicio en busca de sonidos y clics. Se evalúan cuatro elementos:

- Función: Busca proyección y desplazamiento lateral.
- Sonidos articulares: Las articulaciones no deben emitir sonidos.

- Rango de movimiento y apertura: la capacidad de abrir depende de la anatomía y varía según el sexo. El área de apertura normal es de 3 a 4 cm.

- Mover el cóndilo: colocar los dedos índices en el costado de la cara frente a la oreja y que realice apertura y cierre

Palpación de los músculos intraorales y extraorales: se deben palpar la lengua, los músculos temporales y pterigoideos.

Palpación de la articulación: se palpa el lado lateral de la cápsula articular justo por delante del trago y la parte posterior de la cápsula articular se palpa insertando los dedos en el conducto auditivo externo.

Haga preguntas sobre los síntomas en reposo y durante la actividad.



Glándulas Salivales: Revisa glándulas parótidas, conductos, secreción glandular, “cantidad y calidad de saliva, simetría y síntomas”. <sup>1,4</sup>

Glándula parótida: Se debe examinar el conducto, si hay excreción glandular, “la cantidad y la calidad de la saliva”, simetría y sintomatología. <sup>4</sup>

## **F. Submandibular**

Cuello: Comprobar mediante “inspección y palpación.” <sup>1</sup>

Se pueden observar pulsaciones anormales, limitaciones de movimiento, ganglios linfáticos, lesiones cutáneas, agrandamiento de la glándula tiroides, atrofia muscular e hipertonia. El cuello debe poder flexionarse, extenderse, doblarse hacia un lado y girar hacia la izquierda y hacia la derecha.

Examen de los ganglios linfáticos cervicales: coloque las manos sobre el ganglio cervical y mueva la cabeza a la posición deseada; por otro lado, utilice las yemas de los dedos para rotar o deslizar suavemente para palpar diferentes áreas.

## **G. Labios**

Durante el examen intraoral, gire las manos hacia afuera sobre los labios, con el pulgar adentro y el índice afuera, y observe la capa mucosa interna; Se debe analizar el color, la textura y la humedad de la mucosa.

## **H. Vista anterior**

Para verificar si existe dolor en los senos nasales debe evaluarse palpando de frente.

Evalúe el seno maxilar colocando la punta del dedo índice sobre el ostium del seno y presionando 1 cm por encima del espacio entre las cejas para evaluar el seno frontal.

Maxilar: forma, estructura, tamaño, volumen, función, estabilidad según la edad, la relación entre el cóndilo y la cavidad glenoidea, el ángulo de la mandíbula inferior, el mentón y la relación entre ambos, la arcada dentaria.

<sup>1,4</sup>

## ***Intraoral***

Se revisa el nivel de higiene, si hay presencia de todos los dientes, si usa prótesis, evaluación de tejidos blandos, etc.

Se debe revisar cada parte de la cavidad oral:

- “ • Mucosa labial y de la mejilla
- Lengua (dorso, cara ventral y bordes)
- Piso de boca
- Paladar (duro y blando)
- Encías (superior, inferior, vestibular, lingual/palatina)
- Pilares amigdalinos.”<sup>1,4</sup>

### **A. Vestíbulo**

“Mucosa bucal: Palpar la mucosa bucal con ambas manos (un dedo dentro y otro fuera de la boca) para detectar lesiones, utilizar guantes para prevenir lesiones infecciosas.”<sup>1,4</sup>

Palpe el borde anterior del músculo masetero y la arteria facial en la mucosa bucal. Evalúe el color, la textura y la inserción del frenillo y el canal parotídeo.

Esté atento a las lesiones ulceradas y nodulares.

### **B. Paladar**

“Se divide en paladar duro y blando; el paladar duro a su vez se divide en anterior y posterior. La porción anterior se examina de forma indirecta con ayuda del espejo bucal, mientras que la porción posterior se examina por visión directa; debe pedirse al paciente que diga la letra Aaaaaa. El color normal del paladar es rosado pálido; observar la papila incisiva, el rafé, rugas palatinas, fosa palatina.”<sup>1,4</sup>

### **C. Orofaringe**

Se deben observar las amígdalas que están ubicadas a ambos lados. Se pueden ver presionando la lengua.

Si hay una infección bacteriana o viral, pueden volverse eritematosas y engrosadas.

“Se debe tomar la punta de la lengua con una gasa y tirando de ella hacia afuera para observar el color, la forma, la textura, el volumen, la disposición y las

características de las papilas, el movimiento, la inserción, la posición y los hábitos que pueda llegar a tener el paciente.”<sup>1,4</sup>

#### **E. Piso de la boca**

“Durante la prueba, el paciente debe sentarse derecho con la barbilla paralela al suelo.

Las técnicas de palpación incluyen palpación intrabucal, palpación extrabucal y palpación bimanual.

Introduce el dedo índice de una mano en la boca para explorar e identificar diferentes estructuras.

Compruébelo pidiendo al paciente que levante la lengua.

Busque: color, posición de las estructuras del suelo de la boca cuando la lengua está en reposo y en movimiento.”<sup>1,4</sup>

#### **D. Dientes**

Se deben revisar molares, premolares, caninos y anteriores, verificar si hay ausencia de piezas dentales si hay caries y la relación corona-raíz, si hay desgaste oclusal, si su morfología es normal, malposición, etc..<sup>31</sup>

#### **F. Oclusión**

Al examinar la oclusión, tenga en cuenta la intercuspidad máxima, las fuerzas oclusales, los contactos prematuros, las relaciones oclusales entre los molares anteroposterior, bucal y lingual, y las mordidas cruzadas que caracterizan a los segmentos afectados..<sup>1</sup>

### ***8. Exámenes complementarios***

En este apartado deben anexarse radiografías, exámenes de laboratorio, tomografías, o cualquier tipo de estudio que haya sido utilizado para poder diagnosticar al paciente.

### ***9.- Plan de tratamiento***

En este punto se le explica al paciente las vías a elegir para retornarlo al estado de salud

A continuación se muestra el ejemplo de una historia clínica y una solicitud de estudios histopatológicos:

# FORMATO DE HISTORIA CLINICA

Fecha: \_\_\_\_\_

## FICHA DE IDENTIFICACIÓN

Nombre:			
Apellido paterno		Apellido materno	Nombre (s)
Sexo	Hombre	Mujer	Edad
Estado civil:		Ocupación:	
Escolaridad:			
Domicilio:			
Teléfono:			
Contacto alternativo:			
Lugar de nacimiento	Entidad federativa	Residencia actual	Entidad federativa

MOTIVO DE LA CONSULTA:

PADECIMIENTO ACTUAL:

ESTUDIOS PREVIOS DE LABORATORIO, GABINETE Y OTROS:


ANTECEDENTES HEREDOFAMILIARES

Padre
Madre
Abuelos
Hermanos
Colaterales

ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS

Quirúrgicos	
Traumáticos	
Alérgicos	
Transfusionales	
Toxicomanías	

ANTECEDENTES PERSONALES NO PATOLÓGICOS

Vivienda	

Alimentación	
Higiene	
Inmunizaciones	
Actividad física	

### INTERROGATORIO POR APARATOS Y SISTEMAS

<b>DIGESTIVO</b>	
<b>RESPIRATORIO</b>	
<b>CARDIOVASCULAR</b>	
<b>ENDOCRINO</b>	
<b>HEMATOLINFÁTICO</b>	
<b>GENITOURINARIO</b>	

<b>NERVIOSO</b>	
<b>MÚSCULO ESQUELÉTICO</b>	
<b>TEGUMENTARIO</b>	

**SINTOMAS GENERALES**

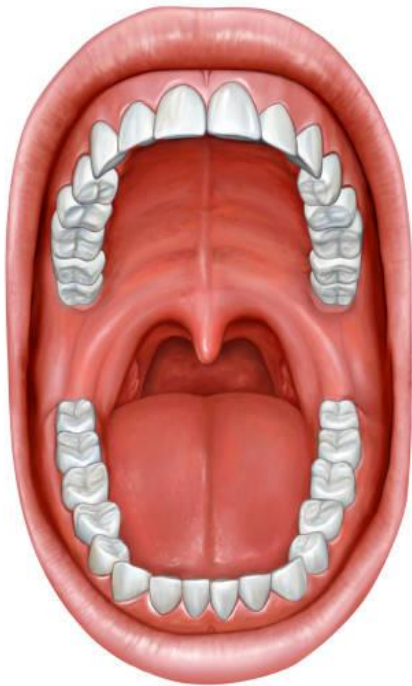

**INSPECCIÓN GENERAL**


## EXPLORACIÓN REGIONAL

<b>CABEZA</b>	
Cráneo	
Cara	
Ojo	
Nariz	
Oídos	
Articulación temporomandibular	
<b>CUELLO</b>	
Laringe	
Tráquea	
Tiroides	
Ganglios	
<b>OTRAS REGIONES</b>	



## EXPLORACIÓN INTRAORAL

**ESTUDIOS DE LABORATORIO, IMAGENOLÓGICOS Y  
AUXILIARES**


**DIAGNÓSTICO PRESUNTIVO**


**DIAGNOSTICO DEFINITIVO**


**PLAN DE TRATAMIENTO**


## CAPITULO 2

### BIOPSIA/MATERIAL BIOLÓGICO

“La palabra biopsia se deriva del griego Bios: Vida y Opsi: Visión. Es el procedimiento quirurgico en el que se extrae una parte de tejido anormal para su posterior estudio histopatológico macroscópico y microscópico que permite establecer un diagnóstico definitivo en la mayoría de los casos “ [18,19,20](#)

#### Indicaciones de la biopsia

- Cualquier lesión de la cual se sospeche ser un tejido anormal y que no ha mostrado mejoría después de 10 días..
- Inflamación sospechosa de ser una neoplasia.
- Engrosamiento persistente de un tejido.
- Producto del drenado de alguna fistula
- Lesiónen hueso
- Ulcera que nosane después de dos semanas con tratamiento adecuado.
- Alteración en las mucosas.
- Lesiones quísticas.



#### Cuidados quirúrgicos en un procedimiento de biopsia

- “1. El paciente debe haber autorizado previamente el procedimiento
2. Técnica aséptica.

- 3.No pintar la superficie del lugar de muestreo con yodo o pinturas antisépticas.
- 4.No es conveniente inyectar anestesia local en la lesión, para no perder el borde, se debe utilizar de forma periférica.
- 5.Seleccione la ubicación del daño más representativa.
- 6.Recoger muestras antes de la administración de algún fármaco.
- 7.El corte debe ser profundo y estrecho, no ancho y poco profundo.
- 8.Los materiales deben incluir tanto tejido sano como enfermo para que el patólogo tenga un punto de referencia.
- 9.Se prefiere un corte ovalado.
- 10.Mantenga el suministro de sangre en los colgajos.
- 11.Evite traumatismos excesivos en las fibras nerviosas.
12. Utilice un bisturí con una cuchilla nueva para evitar desgarrar la lesión.
13. Al recolectar la muestra con pinzas, no dañe la muestra.”<sup>12,18,27</sup>

## **Tipos de biopsias**

### **a. “Excisional**

Si la lesión es pequeña, se elimina toda la lesión sin dejar ningún residuo.

### **b. Incisional**

Se usa cuando la lesión es grande, se toma una parte significativa y se deja el resto de la lesión.”<sup>18</sup>

### **c. Citología por aspiración (punción aspiración con aguja fina – PAAF).**

“La muestra se obtiene punzando el órgano o tumor con una aguja conectada a una jeringa y extrayendo las células bombeando a través de la jeringa. Esta técnica permite el estudio de células parenquimatosas en órganos o tumores sólidos.”<sup>12,18,27</sup>

**d. “Sacabocado**

Implica el uso de instrumentos quirúrgicos para extraer una pequeña sección de tejido para obtener una muestra profunda.

**e. Curetaje**

Consiste en raspar ciertas cavidades como los senos paranasales con una cureta.

**f. Frotis**

Este proceso se realiza cuando las muestras son líquidas y se extienden sobre un portaobjetos.

**g. Biopsia por congelación**

Este procedimiento se realiza cuando el paciente se encuentra aún en cirugía para determinar que zonas deben ser extirpadas o no y no tener que someter dos veces al paciente al procedimiento quirúrgico.

**h. Citología**

Es la parte de la histología que estudia las células, su estructura y función.

**i. Citología exfoliativa**

Se realiza un raspado de las células de la superficie del órgano a estudiar y la muestra se extiende sobre un portaobjeto.”<sup>18.19.20</sup>

**TOMA DE MATERIAL BIOLÓGICO**

Las muestras no representativas o inapropiadas no son de utilidad para el patólogo o el técnico en histopatología y solo someterán al paciente a procedimientos repetidos innecesarios.

Por tanto, es necesario comprender cómo recolectar materiales biológicos.<sup>20</sup>

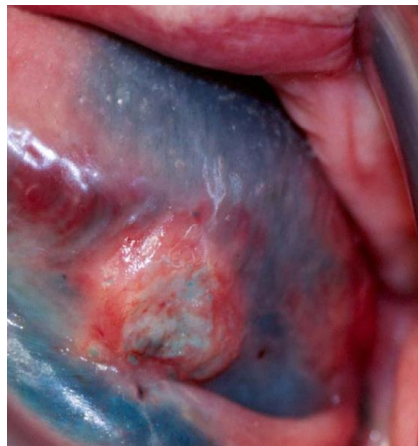
- 1.- “En lesiones pequeñas se indican las biopsias excisionales
- 2.- Lesiones de mayor tamaño se indican biopsias incisionales que incluyan tejido con la lesión representativa, tejido transicional y márgenes sanos.
- 3.- En las lesiones potencialmente malignas y con alta sospecha clínica de malignidad, se prefiere tomar una o varias biopsias incisionales. “<sup>20</sup>

La decisión debe tomarse en función de las manifestaciones clínicas de la lesión.

“Las lesiones con diferentes patrones de lesión y diferentes presentaciones clínicas requieren múltiples muestras.

Para seleccionar las áreas más graves de displasia, se recomienda marcar con azul de toluidina al 1%.

El azul de toluidina es un colorante metacromático acidófilo que pertenece al grupo de las tiazidas. Su característica principal es la tinción selectiva de componentes ácidos de los tejidos, como los radicales sulfato y fosfato, que se incorporan al ADN y ARN celular. Por tanto, se utiliza para la tinción nuclear "in vivo", basándose en el hecho de que las células displásicas y degenerativas contienen una cantidad cuantitativamente mayor de ácidos nucleicos y, por tanto, conservan la tinción”<sup>18,19</sup>



### **Material e instrumental**

- “Carpule y aguja para anestesia del calibre adecuado para la zona en la que se va a anestesiar
- Cartucho de anestesia
- Hoja y mango de bisturí
- Pinza Adson con dientes
- Separador de Farabeuf
- Pinza mosco, porta agujas, tijeras y sutura
- Contenedor para muestra con formol, etiquetado previamente con todos los datos del paciente.”<sup>2</sup>

## Anestesia

Se recomiendan el uso de técnicas adecuadas al cuadrante que será tratado

No se recomienda inyectar directamente en la lesión .



8

## Estabilización del tejido biopsiar

El tejido debe estar sujetado con hilos de sutura, retractores, pinzas, gasa o los dedos. Se recomienda no acercarse mucho al eyector para evitar succionar la muestra.<sup>2</sup>

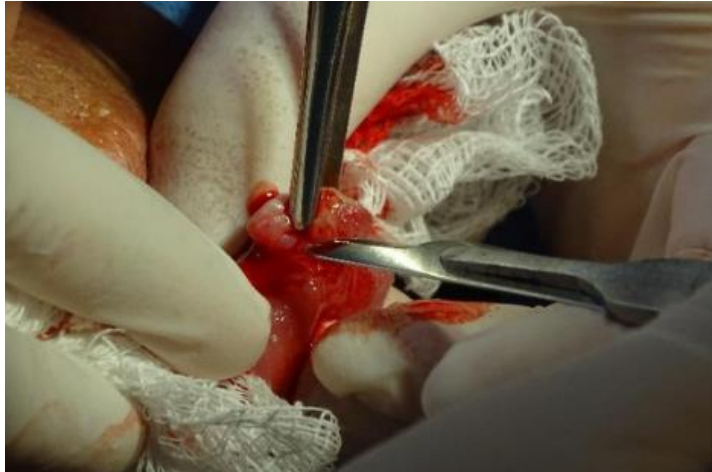


8

## Incisión

- Es preferible realizar el corte paralelo a los nervios y vasos sanguíneos.
- La profundidad del corte debe exceder la profundidad probable de la lesión sospechada.
- La incisión ovalada generalmente se usa para lesiones menores de 1cm y la incisión en cuña se usa para biopsias incisionales, ambas son convenientes para suturar.
- Se deben seleccionar tejidos que clínicamente consideremos displásicos o que presenten signos de infiltración.
- Se puede utilizar azul de toluidina para identificar la zona más displásica.

- Debe incluir 2-3 mm de tejido sano.<sup>2</sup>



8

Entre los especímenes enviados para examen histopatológico se incluyen:

- Los fluidos, tejidos, pelo, uñas.
- Los productos de la concepción: restos ovulares, fetos, etc.
- Los dispositivos médicos implantados en el cuerpo.
- Los dispositivos temporales como catéteres intravenosos, tubos endotraqueales usualmente no se examinan, salvo petición expresa.
- Los objetos extraños removidos del cuerpo, incluyendo objetos introducidos por trauma como balas.<sup>27</sup>

## **ROTULACIÓN, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTACIÓN DE LA MUESTRA**

1) Transporte de la muestra: las muestras deben ser colocadas en recipientes de plástico o vidrio transparentes que contengan una solución fijadora como el formol, , cada recipiente debe estar debidamente marcado con un rótulo en donde debe ir anotado con tinta indeleble y con letra legible el nombre del paciente, identificación, número de historia clínica, edad, tipo de muestra y órgano de donde procede la muestra.

Cada envase debe estar etiquetado con el nombre del paciente, edad, especimen, en tinta que no se borre y con letra legible.

2) Solicitud : El medico solicitante debe llenar esta solicitud dando instrucciones al histopatologo si es que requiere estudios especiales



La solicitud debe contener los datos del paciente, la fecha del procedimiento, tipo de procedimiento y un resumen clínico de la patología que se está tratando

18,19

Los fijadores están diseñados para precipitar proteínas, aumentar la consistencia del tejido, inactivar enzimas proteolíticas e inhibir el crecimiento bacteriano, preservando así la composición química y morfológica de los componentes del tejido. De esta manera, cuando se obtienen muestras histológicas mediante múltiples procedimientos en el laboratorio de patología, el tejido tiene un alto grado de similitud con el estado original.

Las muestras deben enviarse al laboratorio de patología preferiblemente el día de la cirugía para garantizar que el procedimiento se realice rápidamente y evitar daños causados por una fijación inadecuada.

El procesamiento y las pruebas de las muestras pueden tardar entre 24 y 72 horas.

Sin embargo, se debe permitir un tiempo adicional ya que algunos casos requieren mayor tiempo de fijación, descalcificación (hueso), incisiones adicionales, tinciones especiales, estudios inmunohistoquímicos, consultas internas o externas, que pueden retrasar los resultados.

27,28

## **INFORME DEL EXAMEN DE PATOLOGÍA**

Este informe consta de tres partes:

### **a) Descripción macroscópica**

Esta es la sección que describe el tejido enviado para estudio. Es una descripción detallada y específica que identifica el origen del tejido, tipo de muestra, número de fragmentos recibidos, medidas, peso (reservado para muestras grandes), descripción de la superficie externa y apariencia visual característica, color, consistencia, identificación de características anatómicas, estructuras y características de los daños.

### **b) Descripción microscópica**

Los resultados histológicos de las muestras examinadas se describen de forma breve y precisa.

### **c) Diagnóstico**

Se coloca la topografía de la lesión, órgano, localización específica de la lesión, seguida del procedimiento realizado. Luego se coloca el tipo o tipos de procesos patológicos, es decir, el diagnóstico propiamente dicho. Debe ser lo más exacto e informativo posible.

## **PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO**

Se le llama proceso histopatológico al conjunto de pasos por los que debe atravesar un tejido para conferirle las características adecuadas para realizar cortes histológicos y poder examinarlos con un microscopio.. <sup>26</sup>

A continuación, se presenta el formato de la solicitud de un estudio histopatológico

## SOLICITUD DE ESTUDIO HISTOPATOLOGICO

Fecha de recepción: \_\_\_\_\_

Nombre del paciente: \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_

E-mail: \_\_\_\_\_ Teléfono \_\_\_\_\_

Nombre del solicitante: \_\_\_\_\_

### INFORMACIÓN DE LA LESIÓN

Naturaleza:	Neoplásica	Inflamatoria	Desarrollo	Metabólica	
Tipo de lesión:	Nódulo	Mácula	Ampolla	Placa	Úlcera Aumento de volumen
Distribución:	Única	Múltiple	Unilateral	Bilateral	
Superficie:	Lisa	Lobulada	Verrucosa	Ulcerada	Irregular
Color:	Rojo	Blanco	Café	Negro	Sin cambio Otro
Consistencia:	Blanda	Media	Dura	Base Sésil	Pediculada
Tiempo de evolución:	___Días	___Meses	___Años	Desconocido	
Sintomatología	Dolorosa	Otra:	Ninguna	Tamaño:	
Localización:	Lado derecho	Lado izquierdo	Línea media		
Lengua:	Dorso	Ventre	Borde lateral	Vértice	
Paladar:	Duro	Blando	Unión	Piso de boca	
Mucosa labial:	Superior	Inferior	Piel de labio	Piel de cara	
Mandíbula	Cuerpo	Ángulo	Rama ascendente	Encía	
Maxilar	Premaxila	Maxilar posterior	Seno maxilar	Encía	

<b>Periápice OD Tipo de biopsia Medio de fijación</b>	<b>Diagnóstico o clínico</b>				
	<b>Escisional</b>	<b>Incisional</b>	<b>BAAD</b>	<b>Material de revisión</b>	<b>Fecha de toma:</b>
	<b>Formalina</b>	<b>Alcohol</b>	<b>Otro</b>		

**LLENADO POR EL LABORATORIO**

Descripción macroscópica:

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

Fecha: \_\_\_\_\_

Descripción microscópica:

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

Fecha: \_\_\_\_\_

Diagnóstico detallado:

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

Estudios especiales;

---

---

## CAPITULO 3

### PROCESAMIENTO DE TEJIDOS:

#### DESHIDRATACIÓN, ACLARAMIENTO, E INFILTRACIÓN

Los tres pasos del procesamiento de tejidos, son pasos secuenciales designados para remover toda el agua que se pueda extraer de los tejidos y reemplazarla con un medio que se solidifique para así permitir el corte de estos tejidos.

Para el paso de la deshidratación se prefieren los alcoholes -isopropílico o etílico- El xilol, uno de los muchos agentes aclarantes, es usado para la inclusión rutinaria en parafina por su compatibilidad con muchos tipos y tamaños de especímenes.

El procesamiento de los tejidos se lleva a cabo en una maquina llamada Histoquinete, cuenta con 12 recipientes y un brazo móvil que va girando con una canastilla que se sumerge en cada recipiente por el tiempo que sea programada.<sup>5,6,15</sup>



8

## **ESQUEMA CORTO**

**(biopsias y fragmentos pequeños de tejido)**

### **TIEMPO TOTAL DE PROCESAMIENTO - de 3 a 4 horas ( manual9**

Tiempo mínimo de fijación, 3 horas

Todo el procedimiento se debe hacer con los líquidos a temperatura de 50° ( dentro de la estufa)

1. Enjuague muy brevemente en agua corriente
2. Alcohol al 96%.....20 min.
3. Alcohol 100%..... 20 min.
4. Partes iguales de alcohol absoluto y xilol... 20 min
5. Xilol, ..... 20 min.
6. Parafina, 2 cambios.....20 min.
7. Incluya.

## **ESQUEMA NOCTURNO**

**Se realiza con el histoquinette**

### **TIEMPO TOTAL DE PROCESAMIENTO - de 14 a 16 horas**

1. FORMOL .....1 hora y media
2. Alcohol al 96%, 2 cambios..... 1 hora y media
3. Alcohol absoluto, 2 cambios..... 1 hora y media
4. Xilol y Alcohol absoluto, ,..... 1 hora y media
5. Xilol, 2 cambios,..... 1 hora y media
6. Parafina, 2 cambios ..... 1 hora y media
7. Incluya<sup>7</sup>

Según Raimundo García del Moral <sup>23</sup>

## MÉTODO PARA EL REPROCESAMIENTO DE TEJIDOS

### “SOLUCIÓN MATRIZ DE FORMOL-ACETATO DE SODIO

Formaldehído, 38%-40%.....10.0 ml

Acetato de sodio..... 2.0 g

Agua corriente.....90.0 ml

### SOLUCIÓN DIARIA DE FORMOL-GLICEROL

Solución matriz de formalina-acetato de sodio.....90.0 ml

Glicerina (glicerol)..... 10.0 ml

## PROCEDIMIENTO

1. Coloque el espécimen en parafina derretida... por 1 hora.
2. Xilol, 3 cambios, ..... 1 hora c/u
3. Alcohol absoluto, 2 cambios ..... 1 hora c/u
4. Alcohol al 95%, 2 cambios, ..... 1 hora c/u
5. Agua corriente por ..... 30 minutos.
6. Coloque la solución de formol-glicerol, hasta que los tejidos se tornen blandos y flexibles a la presión suave. Los tejidos pueden permanecer en formol-glicerol hasta por 8 horas sin efectos adversos.
7. Reproceso en el procesador de tejidos de forma usual<sup>23</sup>

## DESCALCIFICACIÓN Y REBLANDECIMIENTO TISULAR

Se conoce como descalcificación a la eliminación de las sales de calcio presentes en los tejidos tras haber sido fijados. Este procedimiento se realiza sobre tejidos mineralizados (dientes y hueso) y a veces, en especímenes con calcificaciones que dificultan el corte y la observación microscópica de las lesiones.

Los principales agentes descalcificadores están formados por ácidos fuertes o débiles.

### Descalcificación química

Los principales reactivos que se utilizan son ácidos fuertes como el nítrico o el clorhídrico, y débiles, como el ácido sulfuroso o ácidos orgánicos,

como el fórmico, acético o tricloroacético. El descalcificante ideal debe poseer las siguientes cualidades:

a) Eliminar completamente los depósitos cálcicos

b) No alterar la estructura de los tejidos tratados

c) No interferir con los procedimientos de tinción.

El ácido nítrico es el agente más rápido y eficaz, aunque utilizado en concentración alta.<sup>7,26</sup>

### ***PREPARACIÓN DE DESCALCIFICANTE***

Para 1 L de solución:

800mL ácido nítrico

200mL agua corriente

### **PROCEDIMIENTO**

Sacar la pieza del formol (este procedimiento se lleva a cabo antes de procesar la muestra) y enjuagar con agua corriente.

Sumergir la pieza y dejarla reposar.

En piezas muy duras de 2 a 3 días, la muestra debe estarse revisando constantemente, ya que en tejidos muy pequeños el ácido puede deshacer la muestra.

Una vez decalcificada se debe enjuagar y sumergir en un recipiente saturado de agua y jabón por 30 min.

Enjuagara y procesar como de costumbre.<sup>26,28</sup>



## CAPÍTULO 4

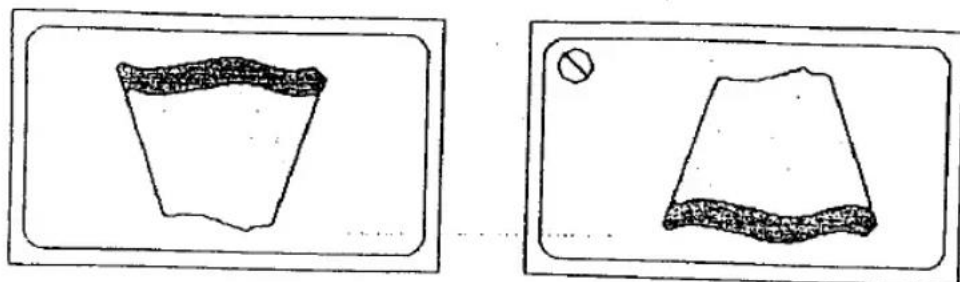
### INCLUSIÓN

#### ORIENTACIÓN DEL ESPÉCIMEN

El técnico histopatológico debe revisar cada fragmento recibido para decidir como orientar el tejido en el bloque. Pueden ponerse folios de papel dentro de los cassette. Los márgenes pueden marcarse con tinta china para indicar la orientación correcta.<sup>16</sup>

#### CONSIDERACIONES GENERALES

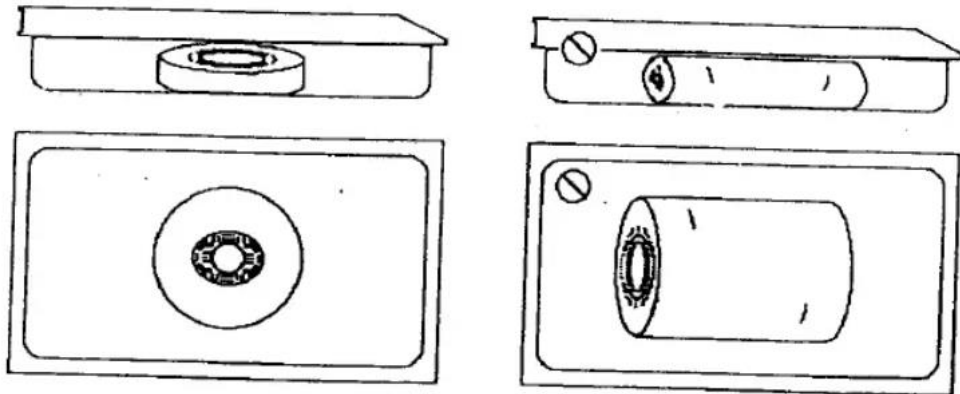
Los tejidos deben ser incluidos planos para que al momento de cortar se obtenga un corte de la totalidad del tejido. La orientación de ser tal que la resistencia del tejido a la cuchilla vaya de menor a mayor a medida que se va cortando el bloque. Debe haber un margen (2 mm mínimo) de parafina rodeando el tejido.<sup>7</sup>



7

#### ESTRUCTURAS TUBULARES

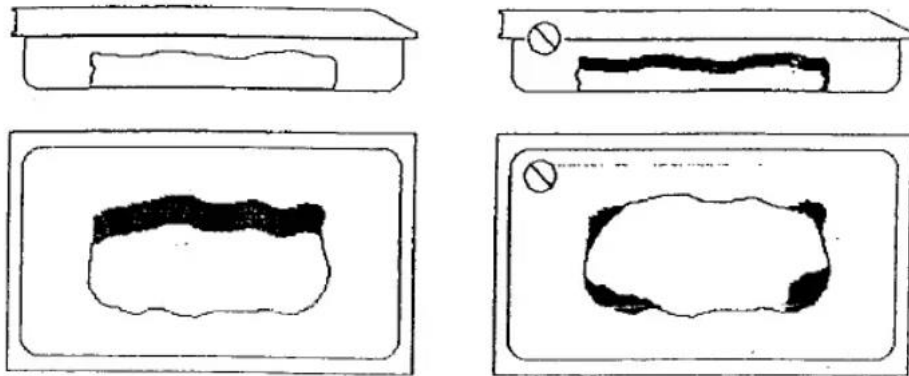
Venas, arterias y oviducto deben ser incluidas de manera que la cuchilla corte a través de la luz tubular.



7

### **SUPERFICIES EPITELIALES**

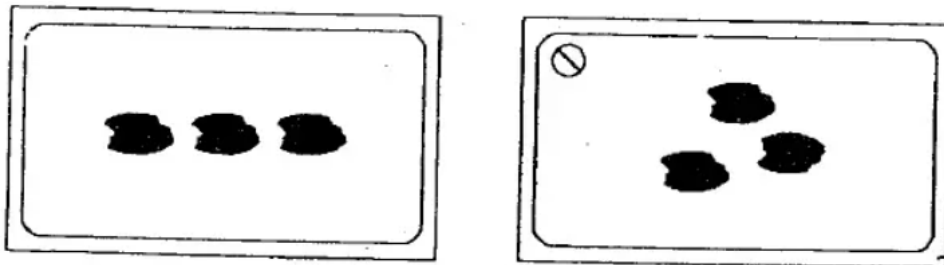
Como la piel, el intestino, la vesícula biliar, la vejiga urinaria y el útero, deben ser colocados en forma tal que el plano de sección pase a través de todas las capas del tejido.



7

### **MÚLTIPLES ESPECÍMENES**

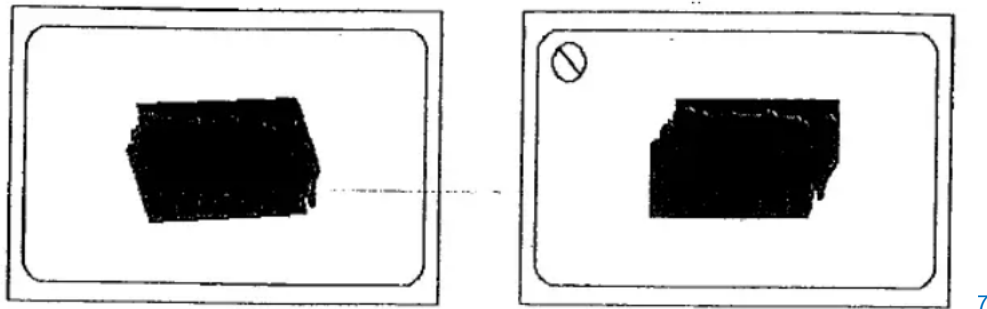
Los especímenes múltiples deben ser incluidos uno junto al otro con sus superficies epiteliales orientadas en la misma dirección.



7

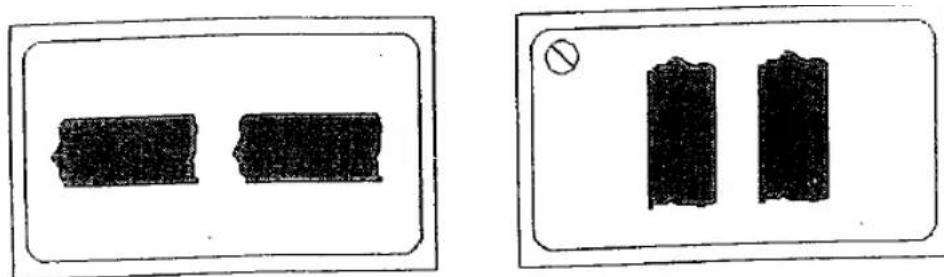
## ESPECÍMENES GRANDES Y SÓLIDOS

Como el útero, la próstata, la glándula tiroides, y el tejido óseo deben ser incluidos con un ligero ángulo en relación al borde de la cuchilla.



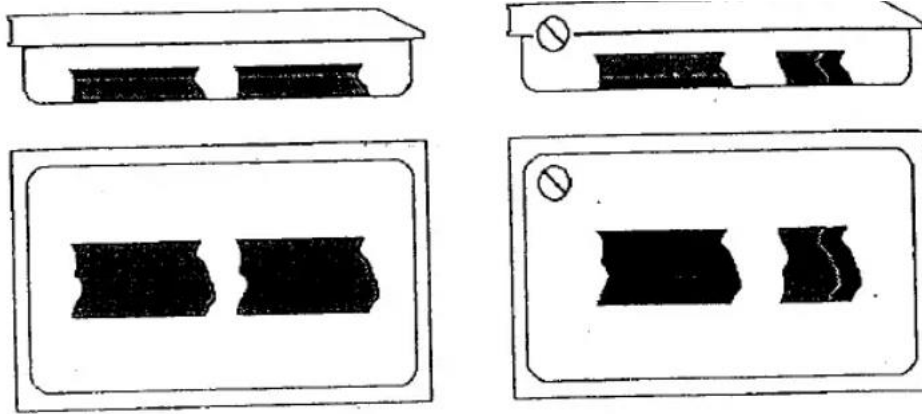
## ESTRUCTURAS QUÍSTICAS

Los quistes deben ser incluidos con la superficie de corte hacia abajo para que así la cuchilla corte a través de todas las capas de la pared del quiste.



## IDENTIFICACIÓN DE MÁRGENES Y SUPERFICIES

Los tejidos cuya superficie esta marcada con tinta china o colorante deben ser colocados de forma tal que la tinta se pueda ver en el borde de la sección. <sup>3</sup>



7

### PROCESO TÉCNICO DE INCLUSIÓN EN PARAFINA

1. Se utilizan pinzas calentadas previamente en un mechero de Bounsen para prevenir que la parafina se adhiera a las pinzas.
2. Abrir la cápsula para examinar el tejido.



8

3. Seleccionar el molde adecuado de acuerdo con el tamaño de la muestra del tejido.



8

4. Recalentar las pinzas, remover el tejido de la cápsula y colocarlo en el fondo del molde.



8

5. Si la cápsula procesadora es también usada como cápsula de inclusión la tapa deberá ser descartada.



8

6. Una vez colocado el tejido en el fondo del molde se colocara en la placa fría



8

7. El tejido y la cera solidificada permanecen unidos a la cápsula de inclusión, formando un bloque de parafina que por este momento está listo para cortar.<sup>5</sup>

## EQUIPO PARA LA INCLUSIÓN

### Centro de inclusión

El centro de inclusión está compuesto por dos partes

La primera es el centro donde se deposita la parafina para que se caliente y pueda utilizarse para incluir, cuenta con un fundidor de parafina, depósitos para los cassetes, una placa caliente y una placa fría, que es donde se incluye.

La segunda parte es la placa fría donde depositamos los bloques ya incluidos para que se enfríen y puedan separarse de los moldes.<sup>9</sup>



8

### Moldes de inclusión de acero inoxidable

Se usan para solidificar la parafina líquida y convertirla en bloques. Los moldes de acero inoxidable son considerados como ideales. Son manufacturados en varios tamaños, pueden ser usados muchas veces, pero necesitan limpieza.<sup>16</sup>



8

### Moldes plásticos

Son desechables, poco profundos y requieren una cajilla de inclusión.



8



## CAPITULO 5

### MICROTOMIA

En este paso el tejido ya forma parte de un bloque de parafina que le confiere la dureza suficiente para obtener los cortes, los cuales se obtienen con un instrumento llamado microtomo.

Se clasifican de acuerdo a la manera en que se mueve el bloque que contiene el tejido incluido, por ejemplo: <sup>17</sup>

#### Microtomo de rotación automático

Los modelos de esta generación permiten a los usuarios seleccionar entre modos de corte automáticos, semiautomáticos o manuales, en función de sus preferencias personales. Este tipo de microtomos van conectados a una fuente de electricidad y deben ser manipulados con cuidado. <sup>17,25</sup>

Cada técnico puede utilizar el modo de corte que desee:

- Automático: corte motorizado pulsando un botón
- Semiautomático: retracción y avance de la muestra pulsando un botón
- Manual: control total



○

## Microtomo de rotación semiautomático

- Adelantar el portabloques con la manivela de avance.
- Recortar seleccionando la función de corte, ubicando las micras que se deseen <sup>17,25</sup>



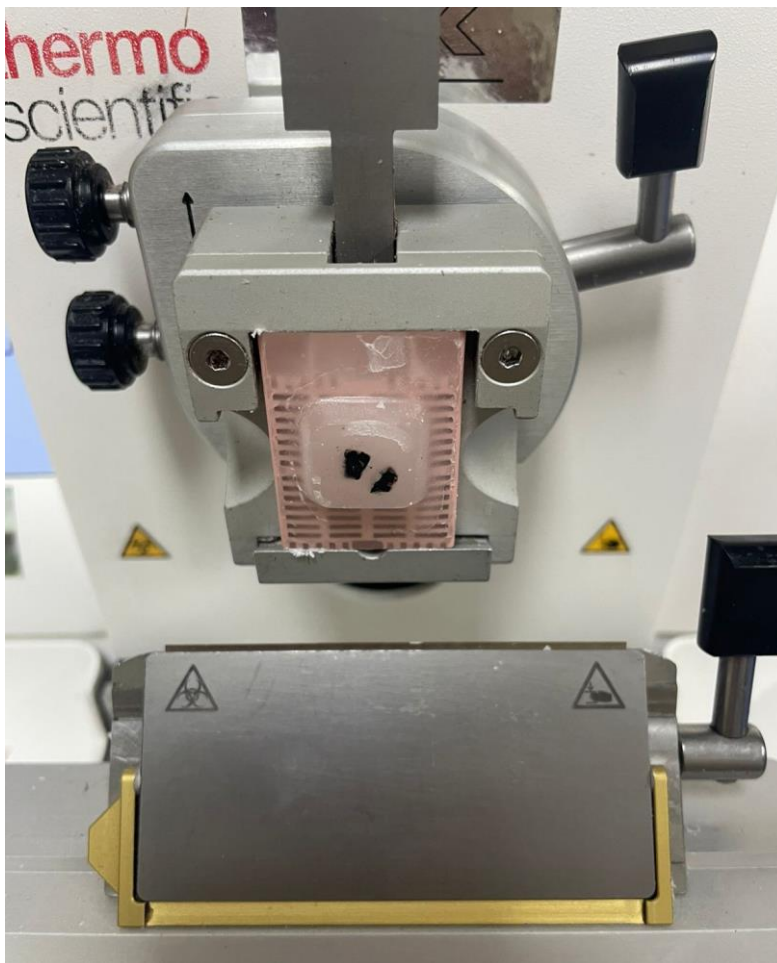
## CUCHILLAS PARA EL MICROTOMO

En el pasado se utilizaban cuchillas hechas de carburo de tungsteno y se afilaban repetidamente en afiladores automáticos, hoy en día se utilizan cuchillas desechables, una vez que pierden el filo; se desechan y se cambian por una nueva. Pueden ser utilizadas en cualquier criostato o microtomo. <sup>17,25</sup>

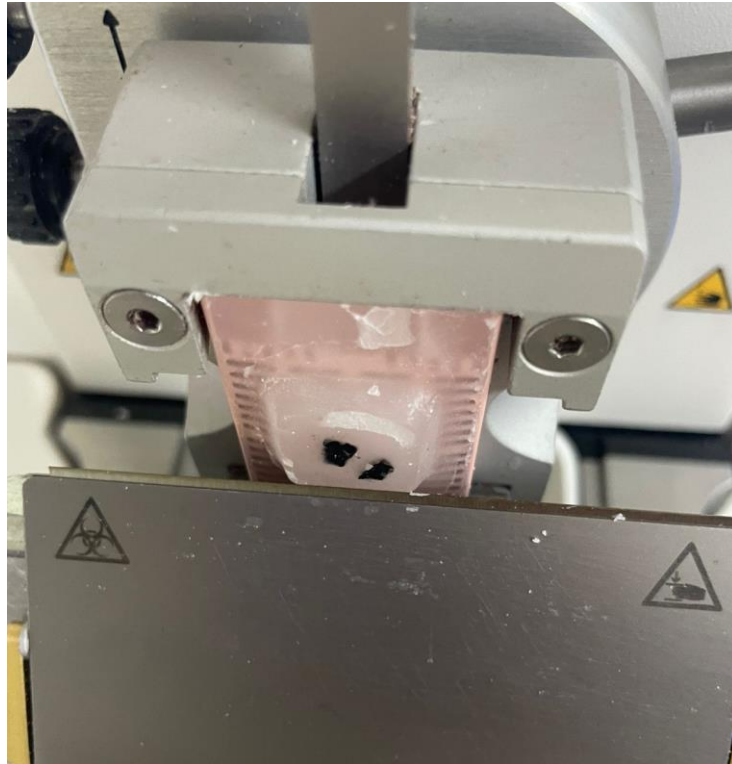


## OBTENCIÓN DE LOS CORTES

a) Colocar firmemente el bloque en el porta bloques.

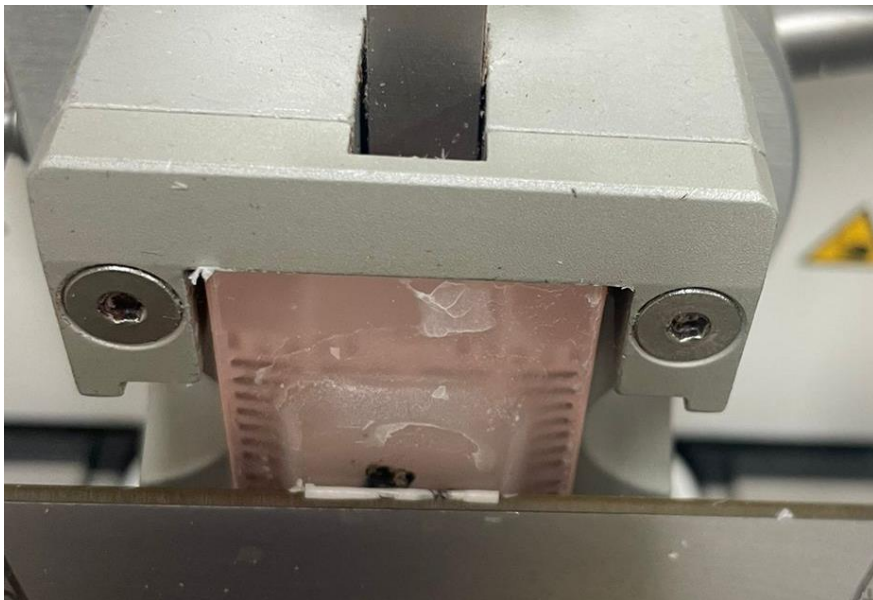


b) Colocar el cabezal a la altura de la navaja.



8

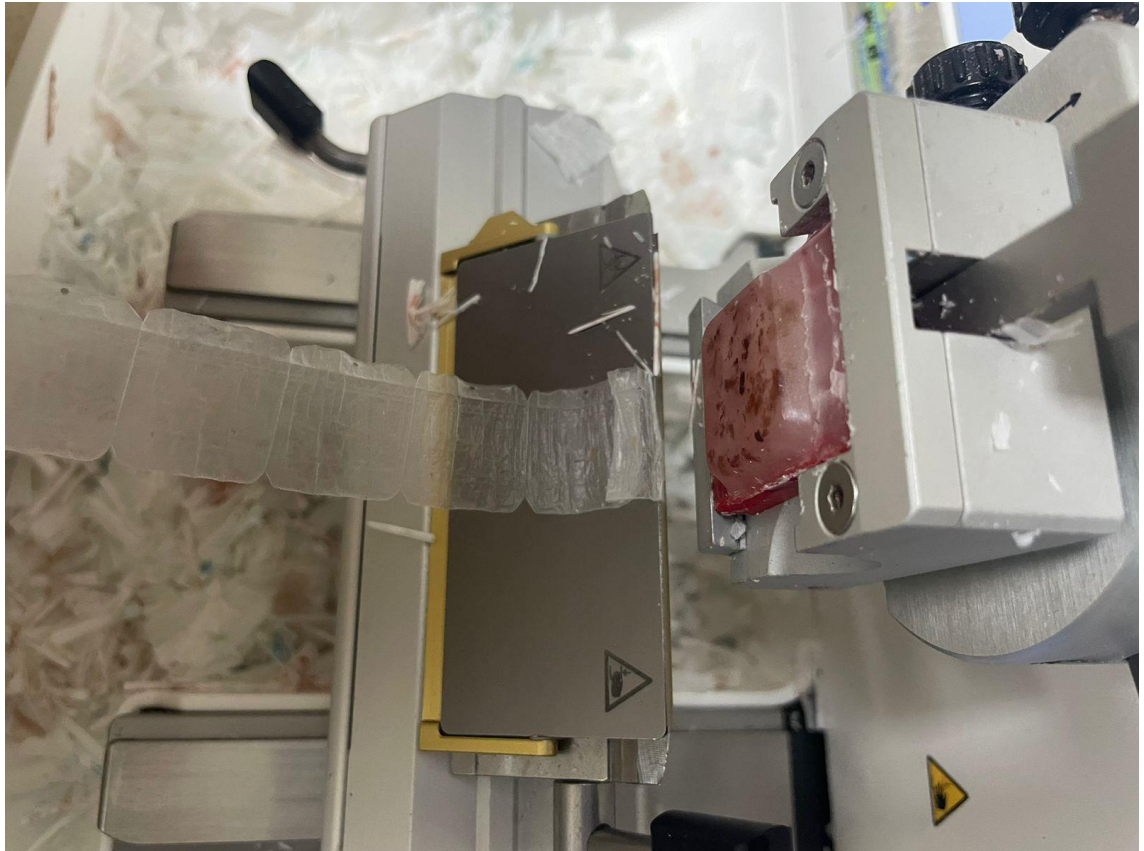
- d) Desbastar el bloque de parafina hasta llegar al tejido y se observe en las tiras que van saliendo el tejido completo



8

- d) Marcar en el dial del microtomo, el número de micrómetros de grosor que deben alcanzar los cortes.
- e) Accionar la manivela que desplaza la abrazadera con el bloque de parafina para obtener los cortes (aislados o seriados).

d)Obtenidos los cortes se recogen cuidadosamente con unas pinzas o pinceles finos o aguja de disección.<sup>30</sup>

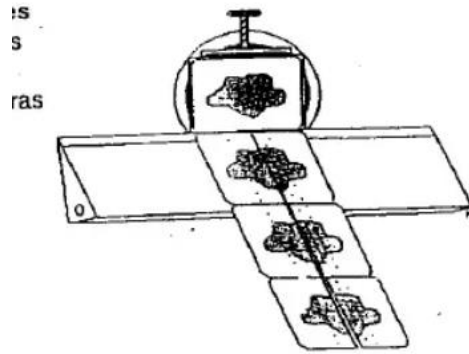


8

## **PROBLEMAS DURANTE EL PROCESO DE CORTE Y SUS POSIBLES CAUSAS**

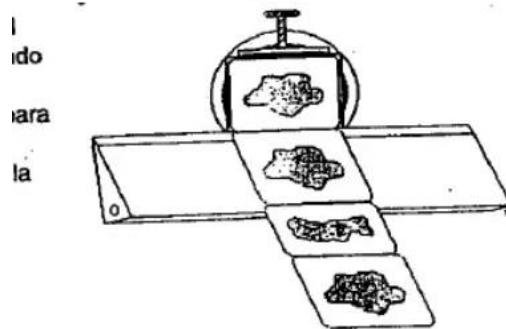
### **1. CINTAS CORTADAS O RASGUÑOS LONGITUDINALES**

Presencia de partículas u otros materiales indeseables en el borde de la cuchilla, como calcio, material de cuerpo extraño (suturas o cristales en especímenes), arena o partículas en la parafina.



## 2. SECCIONES GRUESAS Y DELGADAS

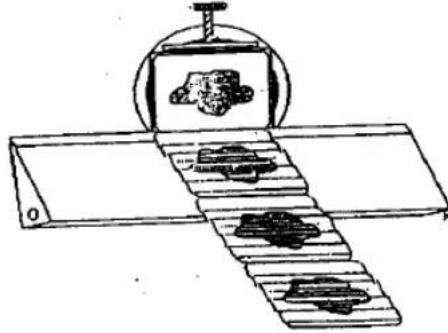
Bloque demasiado grande para el microtomo, tornillos flojos, bloque o tejido demasiado duro para cortar sin remojar, ángulo de la cuchilla que no rebasa el bisel, porta cuchillas oxidados.



7

## 3. COMPRESIONES Y ARRUGAS

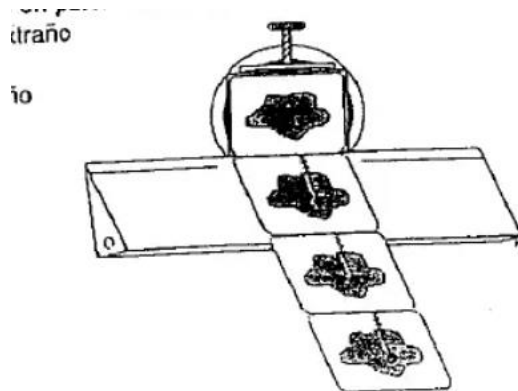
Cuchilla y/o bloque caliente, cuchilla demasiado vertical, secciones demasiado delgadas, tornillos flojos en el microtomo, cuchilla amellada.



51 7

#### 4. RASGUÑOS, LÍNEAS, O SEPARACIONES EN PARTE DE LA SECCIÓN

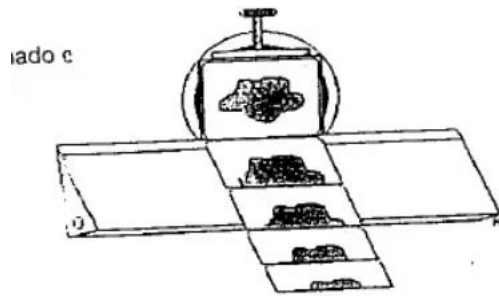
Partículas o material de cuerpo extraño en la parafina, calcio o material de cuerpo extraño en el tejido.



7

#### 5. SECCIONES EN TAMAÑO DESIGUAL

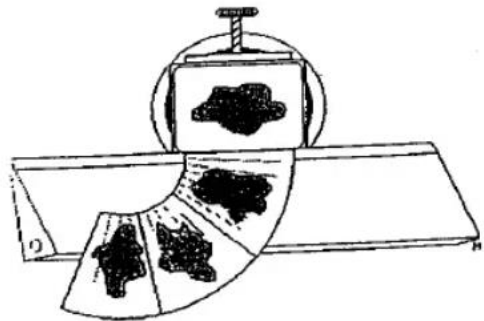
Bloque inadecuadamente rebanado o alineado con la cuchilla.



7

## 6. CINTAS DESIGUALES O TORCIDAS

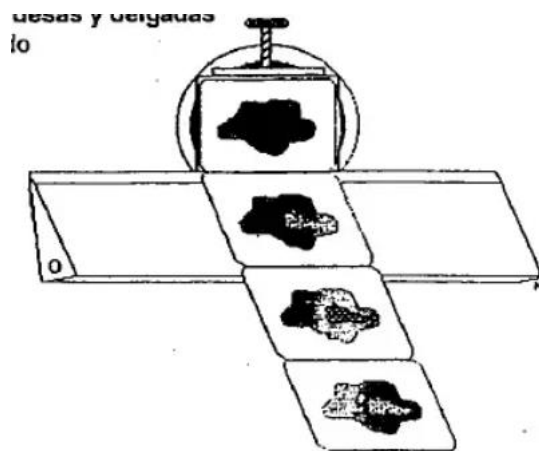
Borde irregular de la cuchilla, cuchilla y bloque no paralelos, bloque carente de forma rectangular o cuadrada.



7

## 7. HUECOS O SECCIONES CON ÁREAS GRUESAS Y DELGADAS

Tejido incompletamente procesado.

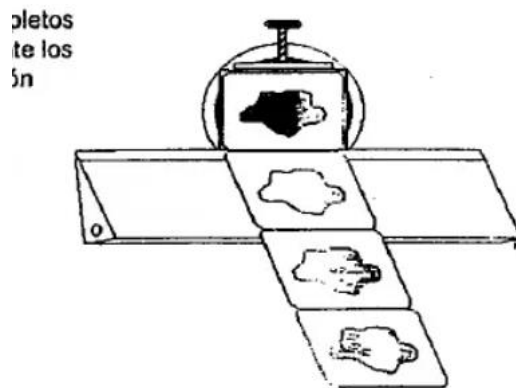


7



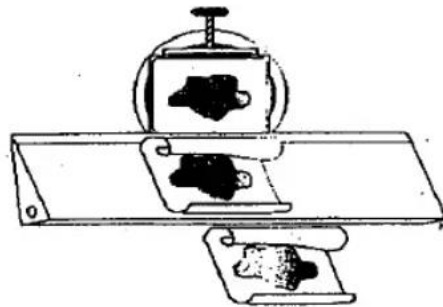
## 8. SECCIONES INCOMPLETAS, SECAS O ROTAS

Procesamiento o infiltración incompletos, parafina demasiado caliente durante los pasos de infiltración o inclusión.



## 9. CINTAS QUE NO SE FORMAN

Cuchilla mellada, cloque demasiado caliente, ángulo de la cuchilla incorrecto, mecanismos del microtomo flojo, procesamiento incompleto del tejido.



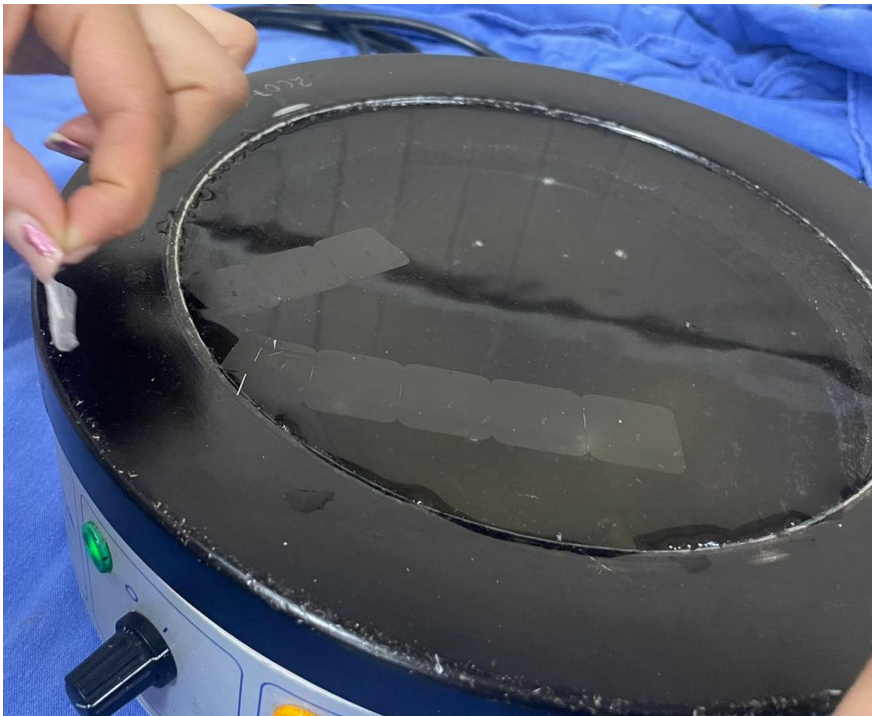
## EXTENSIÓN Y ADHESIÓN DE LOS CORTES AL PORTAOBJETOS

La mayoría de las veces la tira de cortes presenta arrugas o dobleces, por ello deben ser extendidos en el agua caliente de un aparato llamado "baño de flotación" (con una temperatura entre 40o a 45 ° C).



8

Cuando las secciones se depositan sobre el baño de flotación se extienden y se eliminan las arrugas.



8

Para seleccionar un solo corte de la tira de utiliza una aguja de disección o la misma esquina de la laminilla



8

Para mejorar la adhesión del corte a la laminilla se puede agregar previamente gresina al baño de flotación.

Al momento de pescarlos se pueden acomodar en la laminilla

Después se colocan dentro de la estufa de 20 a 30 minutos para desparafinarlos<sup>7</sup>

## CAPÍTULO 6

### COLORACIÓN O TINCIÓN

Los cortes de los tejidos adheridos a los portaobjetos están listos para ser coloreados.

El procedimiento de coloración o tinción consiste en que una estructura celular o tisular adquiere específicamente un color bajo la acción de una sustancia colorante. Se considera que una estructura se ha coloreado o teñido cuando al ser lavada con el líquido que disuelve el colorante, no se decolora.<sup>29</sup>

#### a) Teoría física.

Considera la tinción como un proceso de adsorción, ya que los colorantes entran en los espacios intercelulares y se mantienen unidos debido a la cohesión molecular

#### b) Teoría química.

Según esta teoría los colorantes se unen (ligan) mediante enlaces iónicos, covalentes o de hidrógeno.

- Los *enlaces iónicos o electrostáticos* se producen cuando el tinte y la sustancia a teñir, tienen cargas eléctricas diferentes y se atraen, por ejemplo, el citoplasma se tiñe porque se cargan las proteínas plasmáticas ( + ) y las partículas del tinte poseen carga eléctrica (- ).<sup>13,11</sup>

#### **Clasificación de los colorantes.**

Se clasifican de acuerdo a:

a) Origen. pueden ser naturales y artificiales (sintéticos).

#### **Colorantes naturales**

se obtienen de:

## **1) Animales.**

El carmín, se deriva de la cochinilla, un artrópodo que vive en los tallos de los nopales (cactus) se usa para teñir el glucógeno

## **2) Vegetales.**

La hematoxilina, es obtenida de la corteza del árbol, "palo de campeche".

## ***Colorantes artificiales o sintéticos.***

Son colorantes elaborados a partir de carbón

Se les conoce como colorantes derivados de la anilina.

Están formados por dos átomos de hidrógeno que son reemplazados por un átomo de oxígeno u otro átomo o grupo químico que tiene un enlace bivalente en lugar de uno, dando como resultado un compuesto coloreado.

Los colorantes artificiales y sintéticos se clasifican en:<sup>30</sup>

## ***Ácidos***

Son sales en las que la parte básica es incolora y la parte ácida está coloreada. Los colorantes ácidos tienen carga negativa, por lo que el nombre correcto es colorantes aniónicos.

También se les llama tintes citoplasmáticos porque tiñen grupos químicos cargados eléctricamente ubicados en una de las cadenas de aminoácidos que forman las proteínas citoplasmáticas.

"Por ejemplo: la eosina, la fucsina."<sup>30</sup>

## **Básicos**

Son sales con una base coloreada y una porción ácida incolora; por ejemplo: el azul de metileno<sup>30</sup>

Tienen carga positiva.

## **Neutros**

Tanto la parte ácida como la básica proporcionan color. Por ejemplo el eosinato de azul de metileno

## **Indiferentes**

No forman sales. Son compuestos no iónicos que no se pueden separar electrolíticamente. Son insolubles en agua pero solubles en disolventes orgánicos como el alcohol y las grasas o lípidos., aunque tienen color, en realidad no son colorantes. Partiendo de la base de que son liposolubles.

“Ejemplo: El sudan negro.”<sup>30</sup>

## ***Clasificación de las coloraciones.***

### **a) Coloración directa o sustantiva.**

Cuando las células entran en contacto con una solución colorante Ejemplo: teñir los núcleos celulares con azul de metileno.

### **b) Coloración indirecta o adjetiva.**

Para que el teñido sea eficaz, se deben utilizar productos intermedios que favorezcan la adhesión del tinte a la estructura del tejido. . La combinación de mordiente y tinte se llama "laca". La mayoría de las soluciones de tinción con hematoxilina requieren un mordiente para proporcionar color. <sup>30</sup>

### **c) Coloración progresiva.**

Los tejidos entran en contacto con el colorante y con el tiempo el tejido alcanza gradualmente la intensidad de color deseada; en este punto se detiene la tinción lavando y retirando el exceso de tinte.

### **d) Coloración regresiva.**

En este caso, el tejido se tiñe con un tinte y luego se expone a una sustancia llamada agente diferenciador, que extrae parte del tinte y, cuando se observa bajo un microscopio, detiene el proceso de diferenciación cuando el componente llega al color deseado.

**e) Coloración simple.**

Este es el proceso de teñir células específicas o componentes de tejido utilizando un solo tinte. Por ejemplo, los núcleos celulares se tiñen con tiónina.

**f) Coloración compuesta o combinada.**

Implica aplicar diferentes tintes a muestras de tejido u órganos para resaltar estructuras específicas dentro de ellos usando diferentes colores.

Puede ser:

**Simultánea**

Cuando se mezclan varios tintes en una solución de

color. En este caso, el tejido se tiñe en una sola vez.

“Ejemplo: Van Gieson (fucsina ácida y ácido pícrico)”<sup>30</sup>

**Sucesiva**

Implica aplicar continuamente diferentes soluciones de tinte al tejido para que ciertos componentes se tiñan con

algunos tintes. “El ejemplo más común es la hematoxilina y eosina,”<sup>30</sup>

**g) Coloración ortocromática.**

Tiñe estructuras con un color propio.. La mayoría de las tinciones producen coloración ortocromática.

#### **h) Coloración monocromática.**

En este tipo de tinción, el tinte tiñe otras estructuras con un color diferente al color que imparte a la propia estructura celular o tisular.

El azul de toluidina tiñe de azul los núcleos y tiñe de color púrpura o rosa ciertos componentes del tejido como la mucina, la matriz del cartílago o el ácido hialurónico.

#### **i) Coloración pancromática.**

Se produce por la actividad colorante de tintes neutros.

En este caso, las partes alcalinas y ácidas actúan sobre el tinte, pero además, los componentes celulares individuales se tiñen con un color diferente al color original, obteniendo así el color creado por su mezcla. El ejemplo más obvio de esta tinción ocurre cuando se tiñe un frotis de sangre. <sup>30</sup>



## ***ESTACIÓN DE TINCIÓN AUTOMÁTICA/ AUTOSTAINER***

En la actualidad existen máquinas que realizan la tinción automáticamente. Únicamente se utilizan para realizar tinción de rutina como lo es H&E, este tren de tinción automático cuenta con recipientes que el técnico debe preparar, tal como si estuviera preparando un tren de tinción normal, la máquina tiene la capacidad de teñir dos rags al mismos tiempo, por lo cual el tren cuenta con dos recipientes de cada sustancia a partir del paso de la hematoxilina al primer alcohol al 96% después de la eosina, cada rag tiene un PIN con un color que la máquina detecta, el técnico es el encargado de programar el tren y de darle los tiempos adecuados según se requiera en cada recipiente. Cuenta con 4 recipientes que se llenan de agua corriente automáticamente y se vacían de igual manera.<sup>15</sup>



8

# TINCIONES

## **HEMATOXILINA Y EOSINA**

La hematoxilina es un colorante natural extraído del árbol hematoxylon campechianum, palo de campeche o palo azul de centroamérica. Se utilizó por primera vez para teñir seda y lona y en 1862 para la coloración de tejidos animales.

### **Oxidación de la hematoxilina**

La hematoxilina debe ser oxidada a hemateína para poder ser usada como colorante. A este proceso oxidativo se le llama maduración de la hematoxilina lo que le confiere la propiedad de teñir.<sup>13,15</sup>

## **Hematoxilina-eosina (H&E).**

Técnica general para todas las estructuras tisulares.

*Según Manual DE Tinciones Especiales* <sup>14</sup>

“FIJACIÓN: Formol

TÉCNICA: Cortes de 3 a 5 micras.

PROCEDIMIENTO:

- 1.- Desparafinar en estufa a 60°C durante 20 minutos
  - 2.- Desparafinar con 2 cambios en xilol
  - 3.- Rehidratar en 4 cambios dando baños en cada recipiente (2 alcoholes 100%  
2 alcoholes al 96%)
  - 4.- Lavar en agua corriente
  - 5.- Teñir con hematoxilina de Harris de 3 a 5 minutos
  - 6.- Lavar en agua corriente
  - 7.- Diferenciar con un baño rápido en alcohol ácido.
  - 8.- Lavar en agua corriente
  - 9.- Virar con un baño rápido en agua amoniacal
  - 10.- Lavar en agua corriente
  - 11.- Teñir con eosina con un baño rápido
  - 12.- Lavar con alcohol al 96%
  - 13.- Deshidratar en 4 cambios con baños rápidos (alcohol al 96%, alcohol 100%) .
- Aclarar con 2 cambios en xilol
- 15.- Montar con resina sintética.”<sup>13</sup>

### RESULTADOS

Núcleos: azules      Citoplasma: de rosado a rojo

**PREPARACION DE DISOLUCIONES:**

**I. Hematoxilina de Harris.**

5 g de HEMATOXILINA  
50 mL de ALCOHOL absoluto  
100 g de ALUMBRE DE POTASIO O DE AMONIO  
2.5 g de ÓXIDO ROJO DE MERCURIO  
1000 mL de agua destilada  
20 mL de ÁCIDO ACÉTICO GLACIAL

“Disolver completamente el alumbre en el agua destilada usando calor y un agitador magnético. Disolver, la hematoxilina en alcohol, agitando vigorosamente a temperatura ambiente. Retire la disolución de alumbre del calor y mezcle lentamente ambas disoluciones. Volver a poner la mezcla sobre calor y llevar a ebullición lo más rápido posible (máximo 1 minuto). Quitar del calor y agregar lentamente el óxido rojo de mercurio. La solución debe volver a ponerse al calor hasta que adquiera un color violeta oscuro. Remover del calor. Dejar enfriar y envasar, agregar el ácido acético glacial. Almacenar a temperatura ambiente. Filtrar antes de usar.”<sup>14</sup>

**II. Disolución de alcohol ácido al 1%**

99 mL de ALCOHOL al 100%

1 mL de ÁCIDO CLORHÍDRICO concentrado

**III. Disolución de agua amoniacal**

1ml hidróxido de amonio

100 mL de aguacorrente

**IV. Disolución stock de eosina**

1 g de EOSINA AMARILLENTO

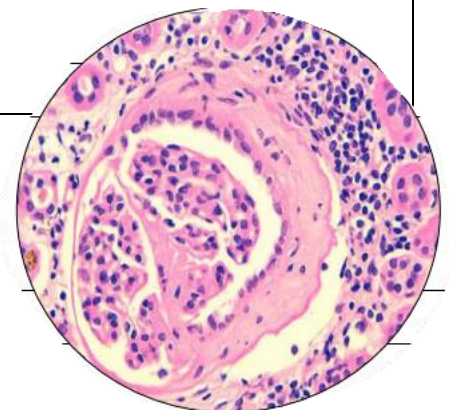
100 mL de ALCOHOL al 70%

**V. Disolución diaria de trabajo de eosina**

1 g de eosina

100mL alcohol 100%

Agregar 1 mL de ÁCIDO ACÉTICO GLACIAL por cada 100 mL de disolución.



## **TINCIONES ESPECIALES**

Cuando el H&E tradicional no proporciona toda la información que un patólogo necesita de una preparación de tejido, muchos métodos de tinción alternativos se denominan tinciones especiales.

La "tinción especial" es un proceso que normalmente utiliza tintes o productos químicos que han mostrado afinidad por ciertos componentes del tejido.

Permiten observar al microscopio la presencia/ausencia de determinado tipo de células, estructuras y/o microorganismos.<sup>13,23</sup>

### ***Métodos tricrómicos***

El uso de tres tintes para identificar estructuras usando diferentes colores se llama método tricrómico. Se utilizan principalmente para resaltar las fibras de soporte o distinguir el tejido conectivo de las fibras musculares, el colágeno y las fibras reticulares basándose en la tinción ácida.<sup>24</sup>

Para fibras colágenas se utilizan las siguientes coloraciones:

- Tricrómico de Masson
- Picro-fucsina de Van Gieson
- Tricrómico de Gomori

Para sustancia amiloide se presenta la coloración de rojo Congo

## TRICRÓMICA DE MASSON.

Método para músculo, colágena y queratina.

*Según Manual DE Tinciones Especiales* <sup>14</sup>

“FIJACIÓN: Reactivo de Bouin o formol.

TÉCNICA: Cortes de 3 a 5 micras.

PROCEDIMIENTO:

- 1.- Desparafinar e hidratar hasta alcohol del 96%
- 2.- Mordentar en reactivo de Bouin durante 1 hora a 60°C
- 3.- Lavar en agua corriente hasta que desaparezca el color amarillo
- 4.- Teñir núcleos con hematoxilina férrica de Weigert durante 10 min
- 5.- Lavar 20 seg en agua corriente
- 6.- Colocar en fucsina escarlata de Beibrich durante 10 min
- 7.- Lavar 20 seg en agua corriente
- 8.- Aclarar con disolución de ácido fosfotúngstico-fosfomolibdico durante 10 min
- 9.- Lavar 20 seg en agua corriente
- 10.- Disolución de azul de anilina durante 5 min
- 11.- Lavar 20 seg en agua corriente
- 12.- Aclarar con ácido acético glacial durante 2 min
- 13.- Deshidratación y diafanización de la manera acostumbrada (H-E)
- 14.- Montar con resina sintética.”<sup>14</sup>

RESULTADOS:

- “Citoplasmas, queratina, fibras musculares y otros elementos rojos
- Colágeno azul
- Núcleos negros” <sup>14</sup>

<p>“PREPARACION DE</p> <p>DISOLUCIONES:</p> <p>I. Reactivo de Bouin:</p> <p>75 mL de disolución acuosa saturada de ÁCIDO PÍCRICO</p> <p>25 mL de FORMALDEHÍDO</p> <p>5 mL de ÁCIDO ACÉTICO GLACIAL</p> <p>II. Hematoxilina férrica de Weigert:</p> <p>Disolución “A”:</p> <p>1 g de cristales de HEMATOXILINA</p> <p>100 mL de ETANOL al 96%</p> <p>Disolución “B”:</p> <p>4 mL de CLORURO FÉRRICO acuoso al 29%</p> <p>95 mL de agua destilada</p> <p>1 mL de ÁCIDO CLORHÍDRICO concentrado</p> <p>Disolución de trabajo:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Disolución “A” y disolución “B” en partes iguales.”<sup>14</sup></li> </ul>	<p>“III. Fucsina escarlata de Biebrich:</p> <p>90 mL de ESCARLATA DE BIEBRICH acuosa al 1%</p> <p>10 mL de FUCSINA ÁCIDA acuosa al 1%</p> <p>1 mL de ÁCIDO ACÉTICO GLACIAL</p> <p>IV. Ácido fosfotúngstico-fosfomolibdico:</p> <p>2.5 g de ÁCIDO FOSFOTÚNGSTICO</p> <p>2.5 g de ÁCIDO FOSFOMOLÍBDICO</p> <p>100 mL de agua destilada</p> <p>V. Disolución de azul de anilina:</p> <p>2.5 g de AZUL DE ANILINA</p> <p>100 mL de agua destilada</p> <p>2 mL de ÁCIDO ACÉTICO GLACIAL</p> <p>VI. Disolución de ácido acético glacial al 1%:</p> <p>1 mL de ÁCIDO ACÉTICO GLACIAL</p> <p>100 mL de agua destilada”<sup>14</sup></p>
---	---



## PASS- SCHIFF

### ***Método para mucina, hongos, amibas, glucoproteínas.***

*Según Manual DE Tinciones Especiales <sup>14</sup>*

“FIJACIÓN: Formol

TÉCNICA: Cortes a 3 micras

PROCEDIMIENTO:

- 1.- Desparafinar e hidratar hasta alcohol del 96%
- 2.- Oxidar en disolución de ácido peryódico durante 5 min
- 3.- Baños en agua destilada.
- 4.- Reactivo de Schiff durante 15 minutos
- . 5.- Lavar con agua corriente tibia.
- 6.- Teñir núcleos con hematoxilina de Harris durante 1 minuto.
- 7.- Lavar bien con agua corriente.
- 8.-Deshidratación y diafanización de la manera acostumbrada (H-E)
- 9.- Montar con resina sintética.

RESULTADOS:

- Glucógeno, Mucina, hongos, amibas, mucopolisacáridos magentas
- . • Núcleos azules.”<sup>14</sup>



<p>“PREPARACION DE DISOLUCIONES: I. Reactivo de Schiff.</p> <p>Disolver 1 g de FUCSINA BÁSICA en 200 mL de agua destilada a punto de ebullición, enfriar, filtrar y agregar 1 g de META-BISULFITO DE SODIO, agitando constantemente. Se le agregan 20 mL de ÁCIDO CLORHÍDRICO 2N, agitar vigorosamente hasta que aclare. Decolorar completamente con 1 g de CARBÓN ACTIVADO y filtrar. Almacenar en oscuridad a 4°C.<sup>14</sup></p>	<p>“II. Disolución ácido peryódico al 0.5%. 0.5 g de ÁCIDO PERYÓDICO.</p> <p>100 mL de agua destilada III. Disolución ácido clorhídrico 2N.</p> <p>91.6 mL de agua destilada</p> <p>8.3 mL de ÁCIDO CLORHÍDRICO concentrado</p> <p>IV. Hematoxilina de Harris.”<sup>14</sup></p>
---	--

# VAN-GIESON.

## Técnica para colágena y músculo.

Según Manual DE Tinciones Especiales <sup>14</sup>

“FIJACIÓN: Formol

TÉCNICA: Corte de 3 a 5 micras.

PROCEDIMIENTO:

- 1.- Desparafinar e hidratar hasta alcohol del 96%
- 2.- Teñir núcleos con hematoxilina férrica de Weigert durante 10 min
- 3.- Lavar 20 segundos con agua corriente
- 4.- Disolución de Van-Gieson durante 5 min
- 5.- 10 inmersiones en alcohol al 96%
- 6.- Deshidratación y diafanización de la manera acostumbrada (H-E)
- 7.- Montar con resina sintética.

RESULTADOS: Colágena roja Músculo y epitelio amarillo” <sup>14</sup>

Núcleos negros

<b>“PREPARACIÓN</b>	<b>DE</b>	“95 mL de agua destilada
<b>DISOLUCIONES:</b>		1 mL de ÁCIDO CLORHÍDRICO
I. Hematoxilina férrica de Weigert:		concentrado
Disolución “A”:		Disolución de trabajo: Disolución “A” y
1 g de cristales de HEMATOXILINA		disolución “B” en partes iguales.
100 mL de ALCOHOL al 96%		II. Disolución de Van-Gieson:
Disolución “B”: 4 mL de CLORURO		5 mL de disolución acuosa de
FÉRRICO acuoso al 29%” <sup>14</sup>		FUCSINA ÁCIDA al 1%
		95 mL de disolución acuosa saturada
		de ÁCIDO PÍCRICO” <sup>14</sup>



# AZUL ALCIANO

## Método para Mucosubstancias Ácidas.

Según Manual DE Tinciones Especiales <sup>14</sup>

“FIJACIÓN: Formol.

TÉCNICA: Cortes en parafina a 5 micras.

PROCEDIMIENTO:

- 1.- Desparafinar e hidratar hasta alcohol del 96%
- 2.- Mordentar en Disolución de ácido Acético al 3% durante 3 minutos.
- 3.- Disolución Azul Alciano durante 30 minutos.
- 4.- Lavar 20 segundos en agua corriente.
- 5.- Contrastar con disolución Nuclear Fast Red durante 3-5 minutos.
- 6.- Lavar 20 segundos en agua corriente.
- 7.- Deshidratación y diafanización de la manera acostumbrada (H-E)
- 8.- Montar con resina sintética.

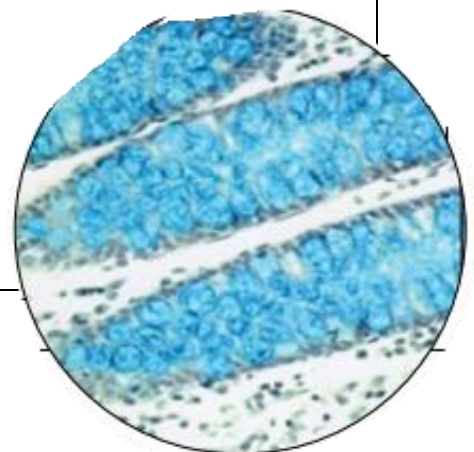
RESULTADOS:

Mucopolisacáridos sulfatados ácidos

ácido hialurónico Azul Núcleos Rojos

Otros elementos de Tejido Rosas”<sup>14</sup>

<p>“PREPARACION DE</p> <p>DISOLUCIONES:</p> <p>I. Disolución ácido acético glacial al 3%</p> <p>3.0 mL de ÁCIDO ACÉTICO GLACIAL</p> <p>97.0 mL de agua destilada II.</p> <p>Disolución azul alciano al 1%</p> <p>1.0 g de AZUL ALCIANO</p> <p>100 mL de ÁCIDO ACÉTICO GLACIAL al 3%</p> <p>Ajustar el pH. A 2.5. Filtrar y agregar unos granos de FENOL”<sup>14</sup></p>	<p>“III. Disolución nuclear fast red:</p> <p>Disolver 0.1 g de NUCLEAR FAST RED en 100 mL de disolución acuosa de SULFATO DE ALUMINIO al 5% calentando ligeramente.</p> <p>Enfriar, filtrar y agregar unos granos de FENOL para preservar.”<sup>14</sup></p>
---	--



# PAS-AZUL ALCIANO

## Método para mucosustancias ácidas y neutras.

Según Manual DE Tinciones Especiales <sup>14</sup>

“FIJACIÓN: Formol.

TÉCNICA: Cortes de 3 a 5 micras.

PROCEDIMIENTO:

- 1.- Desparafinar e hidratar hasta alcohol del 96%
- 2.- Disolución azul alciano (pH 2.5 o 1.0) durante 30 min
- 3.- Lavar con agua corriente
- 4.- Oxidar en ácido peryódico durante diez min
- 5.- Lavar con agua corriente
- 6.- Disolución reactivo de Schiff durante 10 min
- 7.- Disolución Metabisulfito de sodio durante 6 min
- 8.- Lavar con agua corriente.
- 9.- Deshidratación y diafanización de la manera acostumbrada (H-E)
- 10.- Montar con resina sintética.

RESULTADOS:

Mucosustancias ácidas azules.

Mucosustancias neutras magenta.” <sup>14</sup>

### “PREPARACION DE DISOLUCIONES:

I. Ácido peryódico al 1%.

1.0 g de ÁCIDO PERYÓDICO

100 mL de agua destilada

II. Reactivo de Schiff.”<sup>14</sup>

“Disolver 1 g de FUCSINA BÁSICA en 200 mL de agua destilada a punto de ebullición, enfriar, filtrar y agregar

1 g de META-BISULFITO DE SODIO, agitando constantemente. Se le agregan 20 mL de ÁCIDO CLORHÍDRICO 2N, agitar vigorosamente hasta que aclare. Decolorar completamente con 1 g de CARBÓN ACTIVADO y filtrar.”<sup>14</sup>

“Almacenar en oscuridad a 4°C.

III. Disolución azul alciano al 1%

1.0 g de AZUL ALCIANO

100 mL de ÁCIDO ACÉTICO GLACIAL al 3%

Ajustar el pH a 2.5. Filtrar y agregar unos granos de FENOL

IV. Disolución Metabisulfito de sodio al 0.5%

0.5 g de METABISULFITO DE SODIO 100 mL de agua destilada “<sup>14</sup>



## **GROCOTT**

Método para hongos.

*Según Manual DE Tinciones Especiales* <sup>14</sup>

“FIJACIÓN: Formol.

TÉCNICA: Cortes de 3 a 5 micras.

PROCEDIMIENTO: Use laminilla de control

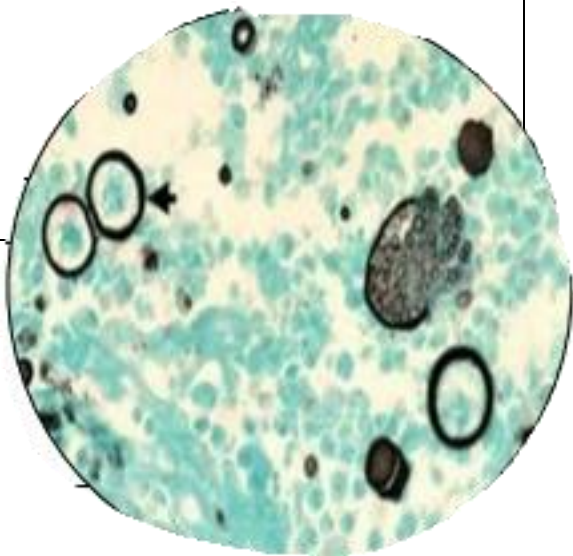
- 1.- Desparafinar e hidratar hasta alcohol del 96%
- 2.- Oxidar en ácido crómico al 4% durante 1 hora.
- 3.- Lavar en agua corriente
- 4.- Remover los residuos de ácido crómico con disolución de bisulfato de sodio durante 1 minuto
- 5.- Lavar con agua corriente de 5 a 10 minutos.
- 6.- Baños en agua destilada.
- 7.- Disolución de trabajo metenamina de plata a 60°C hasta que las secciones tomen color café-amarillento.
- 8.- Lavar con agua destilada.
- 9.- Diferenciar con cloruro de oro hasta que tomen un color gris oscuro.
- 10.- Baños en agua destilada.
- 11.- Disolución tiosulfato de sodio al 2% de 2 a 5 min.
- 12.- Lavar con agua corriente
- 13.- Contrastar con disolución de trabajo verde claro durante 1 minuto.
- 14.- Deshidratación y diafanización de la manera acostumbrada (H-E)
- 15.- Montar con resina sintética.

RESULTADOS:

Hongos negros.

Mucina gris oscuro. Contraste verde.”<sup>14</sup>

<p>PREPARACION DE DISOLUCIONES:</p> <p>I. Disolución ácido crómico al 4% 4.0 g de ÁCIDO CRÓMICO 100 mL de agua destilada</p> <p>II. Disolución nitrato de plata al 5% 5.0 g de NITRATO DE PLATA 100 mL de agua destilada.</p> <p>III. Disolución Metenamina al 3 % 3.0 g de HEXAMETILENOTETRAMINE 100 mL de agua destilada</p> <p>IV. Disolución Bórax al 5% 5.0 g de BORATO DE SODIO (BÓRAX) 100 mL de agua destilada</p> <p>V. Disolución stock de metenamina-nitrato de plata. 5 mL de Nitrato de plata al 5% 100 mL de disolución de metenamina al 3%</p> <p>VI. Disolución de trabajo Metenamina-Nitrato de plata 25 mL de Stock de Metenamina-Nitrato de plata. 25 mL de agua destilada. 2 mL de disolución Bórax al 5%”<sup>14</sup></p>	<p>“VII. Bisulfito de sodio al 1% 1.0 g de BISULFITO DE SODIO. 100 mL de agua destilada</p> <p>VIII. Disolución Cloruro de oro al 0.1% 10 mL de CLORURO DE ORO al 1% 90 mL de agua destilada.</p> <p>IX. Disolución tiosulfato de sodio al 2% 2.0 g de TIOSULFATO DE SODIO 100 mL de agua destilada</p> <p>X. Disolución stock verde claro 0.2 g de VERDE CLARO 100 mL de agua destilada 0.2 mL de ÁCIDO ACÉTICO GLACIAL</p> <p>XI. Disolución de trabajo verde claro. 10 mL de Disolución stock verde claro. 50 mL de agua destilada.”<sup>14</sup></p>
---	--



Según Manual DE Tinciones Especiales <sup>14</sup>

## **PAPANICOLAOU.**

Método para citología exfoliativa.

*Según Manual DE Tinciones Especiales* <sup>14</sup>

“FIJACIÓN: Alcohol al 96%.

TÉCNICA: Frotis de citologías.

PROCEDIMIENTO:

- 1.- Obtención de la muestra y frotis en portaobjetos limpio y seco
- 2.- Fijar con alcohol al 96% durante 15 min.
- 3.- Lavar con agua corriente
- 4.- Teñir núcleos con Hematoxilina de Harris durante 3-5 min.
- 5.- Lavar con agua corriente
- 6.- Diferenciar con agua amoniaca al 1% hasta que vire
- 7.- Lavar con agua corriente
- 8.- Deshidratar en alcohol al 96% durante 2 min.
- 9- Teñir citoplasmas y queratina con OG-6 durante 2min.
- 10.- Diferenciar con alcohol al 96% durante 2 min.
- 11.- Teñir citoplasmas y mucosidades con EA-50 durante 2 min.
- 12.- Deshidratar con 4 cambios sucesivos de alcohol durante 2 min. cada uno (96%, absoluto.)
- 13.- Aclaramiento con 2 cambios sucesivos de xilol.
- 14.- Montar con resina sintética

RESULTADOS:

Núcleos azules.

Células queratinizadas amarillas, naranjas y verdes.

Células parabasales rojas.

Células basales azules.”<sup>14</sup>

“PREPARACION DE DISOLUCIONES:

I. Hematoxilina de Harris.

II. Disolución de agua amoniacal al 1%

1 mL de HIDRÓXIDO DE AMONIO

99 mL de agua destilada

III. Colorante OG-6

10 g de CRISTALES DE ORANGE G

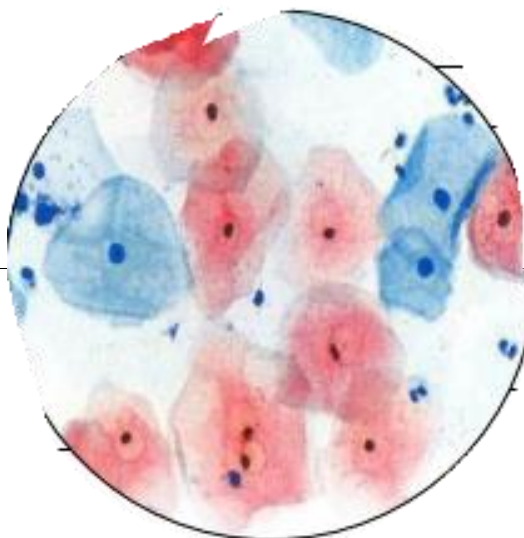
100 mL de agua destilada

950 mL de ETANOL al 96%

0.15 g de ÁCIDO FOSFOTÚNGSTICO

Disolución madre: disolver 10 g de cristales de Orange G en 100 ml de agua destilada. Agitar bien y dejar en reposo durante una semana antes del uso.

Diluir al 0.5% la disolución madre ya reposada: tomar 50 ml y añadir etanol al 96% hasta un volumen de 1000 ml. Añadir a esta disolución 0.15 g de ácido fosfotúngstico. Mezclar bien. Conservar en un frasco de color marrón oscuro con tapón.”<sup>14</sup>



21

“IV. Colorante EA-50

10 g de EOSINA (AMARILLENTO)

10 g de PARDO BISMARCK (AMARILLENTO)

10 g de VERDE LUZ SF AMARILLENTO

300 mL de Agua destilada

2000 mL de ETANOL al 96%

4 g de ACIDO FOSFOTÚNGSTICO

20 gotas de CARBONATO DE LITIO saturado

Preparar disoluciones acuosas al 10%, separadas de cada uno de los colorantes. Tomar 50 mL de disolución madre de eosina Y, 10 mL de disolución madre de pardo Bismark Y y 12.5 mL de disolución madre de verde luz SF y añadir etanol al 96% a la mezcla hasta obtener un volumen de 2000 mL. Añadir 4 g de ácido fosfotúngstico y 20 gotas de disolución saturada de carbonato de litio. Mezclar bien. Conservar la disolución en frasco de color marrón oscuro herméticamente cerrado. Utilizar la concentración máxima. Filtrar antes de cada uso.”<sup>14</sup>



## **CAPÍTULO 7**

### **MEDIOS DE MONTAJE**

El último paso para preparar una laminilla es cubrir el tejido con un trozo de vidrio muy fino llamado cubreobjetos.

Esto hace que el portaobjetos sea permanente y permite la revisión al microscópico.

Se pueden utilizar tres materiales de montaje para el montaje de laminillas: resina natural, resina sintética y materiales a base de agua.

Las resinas naturales pueden reducir la intensidad de la tinción con eosina después de unos años y pueden reducir la retención de pigmentos de anilina básica y provocar la pérdida prematura de la reacción del azul de Prusia.

Por estas razones, las resinas sintéticas se utilizan como soportes para preparaciones comunes de hematoxilina y eosina, así como para la mayoría de las tinciones especiales.

Los medios acuosos se utilizan cuando el tinte o la estructura se altera o destruye por deshidratación o medios xililo y tinción con lípidos.<sup>7,22</sup>

### **COBERTURA DE LAMINILLAS**

- 1.- Escoja el cubreobjetos con el tamaño apropiado para el espécimen.
- 2.- Coloque unas gotas de resina sobre el portaobjetos.
- 3.- Deje caer lentamente de un lado a otro el cubreobjetos, asegurándose de presionar ligeramente sobre este para sacar todo el aire y que no queden burbujas
- 3.- Limpie el exceso de resina de los bordes de la laminilla, no comprometa el área de visualización.

### **RESTAURACIÓN Y REPARACIÓN DE LAMINILLAS**

#### **Remoción de cubreobjetos**

- 1.- Coloque la laminilla en un recipiente con xilol hasta que el cubreobjetos se despegue
- 2.- Disuelva el medio de montaje que haya quedado colocando las laminillas en varios cambios de xilol.

## **Retinción**

Para reteñir o restaurar laminillas desteñidas, incluyendo aquellas con un medio de montaje deteriorado, comience con los pasos 1 y 2 para remover el portaobjetos.

3.-Hidrate a través de varios cambios de etanol absoluto, etanol al 95%, hasta llegar al agua destilada.

4.-Descolorice las láminas en una solución de alcohol ácido al 1% si es necesario

5.- Lave para remover el alcohol ácido

6.-Retiña de acuerdo con la tinción realizada previamente.

### **Reparación de laminillas**

1.-Si la laminilla está rota, pero el cubreobjetos está intacto, pegue la laminilla a una nueva con resina. Secar hasta la mañana siguiente.<sup>22,7</sup>

## **CAPÍTULO 8**

### **SECCIONES POR CONGELACIÓN**

El proceso de corte de tejidos congelados con dióxido de carbono se realiza en un criostato.

El criostato es un microtomo de tipo rotatorio colocado dentro de un gabinete mecánicamente refrigerado. Hay muchos criostatos que tienen plataformas o cámaras en las cuales el tejido se congela rápidamente, y las que en su gran mayoría tienen la capacidad de auto descongelarse. Dentro del ambiente congelado del criostato, el micrótopo, la cuchilla, el interior del gabinete, y todos los utensilios se mantienen a la misma temperatura de operación, de forma tal que el proceso de corte es muy raramente afectado por la temperatura externa. Las plataformas o cámaras de congelación eliminan la necesidad de tener que usar nitrógeno líquido y de agentes tales como el diclorotetrafluoroetano (aerosoles congelantes enlatados) permite tener un control de gastos.<sup>22,7</sup>

#### ***Temperatura***

Cada tipo de tejido tiene una temperatura óptima para el corte, pero es imposible ajustar la temperatura del criostato a cada tejido. Este graduado a -20°C.

#### ***Adhesivos para las secciones***

Muy pocas veces hay que usar adhesivos cuando la tinción en H&E y el tejido es fresco. Las proteínas en el tejido y en los líquidos del tejido se coagulan con el primer alcohol o fijador y esto ayuda a que la sección se adhiera bien a la laminilla.

#### **Técnica de corte**

1.-Se extiende una pequeña cantidad de un medio de inclusión líquido tal como el "Tissue Tek II O.C.T." en la superficie de un botón portaobjeto apropiado. El tejido se coloca en la superficie del botón portaobjeto y se rodea completamente con medio de inclusión. El tejido debe orientarse apropiadamente y con gran cuidado.

2.-El botón portaobjeto se coloca en la plataforma de congelación en el criostato. A medida que el tejido se congela, se puede añadir más medio de inclusión, si así es el caso. El proceso de congelamiento puede acelerarse si el botón portaobjeto está a  $-20^{\circ}\text{C}$ , que es la misma temperatura de la cámara del criostato.

3.-Cuando el tejido está completamente congelado, el botón portaobjeto se monta en la cabeza del micrótopo.

4.-Rebanamiento preliminar del tejido:

- Ajuste el portacuchilla en tal forma que el tejido roce la cuchilla.
- Desengrane el trinquete de avance automático de la rueda dentada.
- Manualmente avance la rueda dentada hasta que el tejido se extienda sobre el filo de la cuchilla aproximadamente 0.1- 0.5 mm.
- Suelte el seguro de la rueda volante (la rueda de la manija grande).
- Rote la rueda volante  $180^{\circ}$  en el sentido contrario al de las manecillas del reloj para comenzar el rebanamiento preliminar. Vuelva inmediatamente la rueda volante a la posición vertical.
- Repita los pasos C,D y E, hasta alcanzar el plano de corte deseado. Asegure la rueda volante.

5.- Embrague el trinquete de avance automático y la rueda dentada. Cuidadosamente limpie el filo de la cuchilla con gasa seca.

6.- Afloje la rueda volante. Muy lenta y suavemente gire la rueda en el sentido de las manecillas del reloj. A medida que la sección se comience a ver en el borde de la cuchilla, use un pincel enfriado para guiarlo a lo largo de la superficie de la cuchilla aplanando de esa forma el tejido

7.- Monte la sección en la laminilla.

8.- La laminilla está lista para teñir.<sup>22,7</sup>

## **TINCIÓN**

1. Coloque los tejidos frescos en formalina alcohólica por 15 segundos
2. Remoje 10 veces en alcohol al 70%
3. Enjuague bien en agua destilada

4. Tiña a hematoxilina de Harris por 45 segundos o 1 minuto.
5. Enjuague con agua corriente
6. Dar baños rápidos en una solución saturada con carbonato de litio hasta que la sección se vuelva azul, aproximadamente 30 segundos.
7. Enjuague en agua tibia.
8. Contraste en la solución eosina y floxina por 30 segundos.
9. Comience la deshidratación con 5 lavados rápidos en cada alcohol al 95%
10. Complete la deshidratación y el aclaramiento en 2 cambios de alcohol absoluto y 2 cambios de xilol.
11. Monte con resina.<sup>22,7</sup>

## CAPÍTULO 9

### ESTUDIOS ESPECIALES

#### ***INMUNOHISTOQUÍMICA***

La inmunohistoquímica (IHQ) es un método de tinción que permite la visualización y localización de proteínas específicas en secciones de tejido fijado y cortadas finamente. Esta tecnología se basa en el uso de anticuerpos que se unen específicamente a la proteína a detectar.

Mediante inmunohistoquímica, se pueden identificar proteínas expresadas diferencialmente en diferentes tejidos, incluidos:

Tumores

- Infecciones
- Enfermedades inflamatorias
- Trastornos auto inmunológicos
- Entre otros

Gracias a la alta especificidad y afinidad de la reacción antígeno-anticuerpo, la IHC puede detectar la expresión de biomarcadores (proteínas) utilizando anticuerpos y sistemas de detección específicos.

Esto se puede realizar en tejido fresco fijado con formalina y coágulos de sangre citológicos incluidos en parafina, lo que permite la evaluación simultánea de la morfología.

Es una técnica compleja y el resultado final se ve afectado por varios parámetros en las etapas preanalítica, analítica y postanalítica. Dependiendo de la elección de estos parámetros y del método de ejecución utilizando el mismo anticuerpo primario, los resultados finales pueden mostrar un rango de negativo a positivo para el antígeno objetivo.

Suele ser solicitada cuando las tinciones de rutina o especiales no permiten llegar a un diagnóstico satisfactorio.<sup>14</sup>

## BIBLIOGRAFIA

1. Arnulfo Arias Rojas, El diagnóstico en odontología de la teoría al quehacer clínico, Edición digital, Cali Colombia, Programa editorial Universidad del Valle, febrero 2018<sub>1</sub>
2. Arteagoitia, Santamaría G, Alvarez J, Barbier L, Santamaría J, Tema 4. Material e instrumental Técnicas de biopsia oral. Complicaciones, Universidad del País Vasco, Euskal Herriko Unibertsitatea
3. BURSTON, W. R., & THURLEY, K. A technique for the orientation of serial histological sections. *Journal of anatomy*, 1957, 91(3), 409–412.
4. Cristóbal Araya, Diagnóstico precoz y prevención en cáncer de cavidad oral, REV. MED. CLIN. CONDES, 2018; 29(4) 411-418].
5. D.C. Shields V, Heinbockel T. Introductory Chapter: Histological Microtechniques [Internet]. Histology. IntechOpen; 2019. Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.82017>
6. Dibal, Nathan Isaac, et al. «Histological Stains and Their Application in Teaching and Research». *Asian Journal of Health Sciences*, vol. 8, n.º 2, octubre de 2022, pp. ID43-ID43. *ajhs.biomedpress.org*, <https://doi.org/10.15419/ajhs.v8i2.514>.
7. Edna B. Prophet, Bob Mills, Jacquelyn B. Arrington, Leslie H. Sobin, M.D. , *Métodos Histotecnológicos*, Instituto de Patología de las fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América, 1995.
8. Fuente directa. Mariana Zúñiga García. Alumna del seminario de titulación en Patología y Medicina Oral. Septuagesima Promoción. Facultad de Odontología, UNAM.
9. Hani A Alturkistani , Faris M Tashkandi & Zuhair M Mohammedsaleh. Histological Stains: A Literature Review and Case Study. *Global Journal of Health Science*; 2016;Vol. 8, No. 3; 72-79.

10. Javaeed, Arslaan, et al. «Histological Stains in the Past, Present, and Future». *Cureus*, vol. 13, n.º 10, octubre de 2021. [www.cureus.com](http://www.cureus.com), <https://doi.org/10.7759/cureus.18486>.
11. Joselyn Lisseth Barragan Lizano, Técnicas de tinciones especiales para el estudio de patologías en tejidos humanos [dissertation], UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO, Riobamba, Ecuador, 2021, 64p.
12. Kumaraswamy, K. L., et al. «Oral Biopsy: Oral Pathologist's Perspective». *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, vol. 8, n.º 2, junio de 2012, p. 192. [journals.lww.com](http://journals.lww.com), <https://doi.org/10.4103/0973-1482.98969>.
13. Luis Montuenga Badía, María Elena Bodegas Frías, Carlos de Andrea, Francisco José Esteban Ruíz. Técnicas de tinción en Histología. Elsevier España, S.L. pp 61-84, 2014
14. *Manual DE Tinciones Especiales (con imágenes) - UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO ESCUELA - Studocu*. <https://www.studocu.com/es-mx/document/universidad-nacional-autonoma-de-mexico/histologia-humana/manual-de-tinciones-especiales-con-imagenes/6391185>. Accedido 11 de diciembre de 2023.
15. Marcela de Dios Soler; Gabriela Acosta Haab., Guía de inmunohistoquímica para técnicos, [internet] Ciudad Autónoma de Buenos Aires, - 1a ed . -, Instituto Nacional del Cáncer, 2018. [Citado el 7 de diciembre de 2023] Disponible en: <https://iah.salud.gob.ar/doc/Documento203.pdf>
16. MARIA DOLORES MORALES FUENTES, ANALISIS DEL PROCESO Y ACCIÓN DEL TREN DE DESHIDRATACION DE LA TECNICA HISTOLOGICA DE RUTINA [dissertation], UNIVERSIDAD VERACRUZANA INSTITUTO DE MEDICINA FORENSE, 2020, 122p.
17. Maurizio, P., & Fabrizio, Z. FNAC: Sampling and Preparation Technique, Fixation, and Staining. *Monographs in clinical cytology*, 2018, 24, 1–8. <https://doi.org/10.1159/000479762>



18. Mohammed, F., et al. «Microtomes and Microtome Knives». *Annals of Dentistry University of Malaya*, vol. 19, n.º 2, diciembre de 2012, pp. 43-50. *ejournal.um.edu.my*, <https://doi.org/10.22452/adum.vol19no2.4>.
19. P.I. Varela Centellesa,, J. Seoane Lestón, A. Romero Méndez, J.M. Suárez Quintanilla y A. Aguado Santos, Biopsia en la cavidad oral. Fundamentos y técnicas, SEMERGEN, Noviembre 2000 ,Volumen 26, Número 10, 488-490.
20. Patricia López Correa, Jaime Casasbuenas Ayala, LA BIOPSIA Y LA CITOLOGIA, PILARES DEL DIAGNÓSTICO MÉDICO (II PARTE), *Rev.Medica.Sanitas* 18 (2): 2015 82-89.
21. Patricia López Correa, Jaime Casasbuenas Ayala, LA BIOPSIA Y LA CITOLOGIA, PILARES DEL DIAGNÓSTICO MÉDICO (I PARTE), *Rev.Medica.Sanitas* 18 (1):2015 29-38.
22. *Presentacion tinciones especiales 2013*. 3 de junio de 2013, <https://es.slideshare.net/agclinica/presentacion-tinciones-especiales-2013-22404515>.
23. Raimundo García del Moral. *Laboratorio de Anatomía Patológica*. Madrid: McGRAW-HILL:1995
24. Ross, Michael H., y Wojciech Pawlina. *Histología: texto y atlas color con biología celular y molecular*. Ed. Médica Panamericana, 2007.
25. S. J. GRAY, A.I.S.T., *Lo Esencial de la Microtomía*, México, D.F.:El Manual Moderno; S.A.: 1976.
26. Sampedro-Carrillo, Enrique Agustín. «Sample Preparation and Fixation for Histology and Pathology». *Immunohistochemistry and Immunocytochemistry: Methods and Protocols*, editado por Luis Del Valle, Springer US, 2022, pp. 33-45. *Springer Link*, [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1948-3\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1948-3_3).

27. Shanti, Rabie M., et al. «Oral Biopsy Techniques». *Dermatologic Clinics*, vol. 38, n.º 4, octubre de 2020, pp. 421-27. *ScienceDirect*, <https://doi.org/10.1016/j.det.2020.05.003>.
28. Sireesha Sundaragiri K, Makarla S, Sankhla B. Methods of Collection and Transport of Materials to Laboratory from Oral and Dental Tissue Lesions [Internet]. *Oral and Maxillofacial Surgery*. IntechOpen; 2021. Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.92677>
29. *Técnicas Histológicas. 5. Tinción. Generales. Atlas de Histología Vegetal y Animal*. <https://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/5-general.php>. Accedido 30 de noviembre de 2023.
30. Terezita, Cuau. *TÉCNICA HISTOLÓGICA CÉSAR EDUARDO MONTALVO ARENAS Agosto de 2010*. *www.academia.edu*, [https://www.academia.edu/11913746/T%C3%89CNICA\\_HISTOL%C3%93GICA\\_C%C3%89SAR\\_EDUARDO\\_MONTALVO\\_ARENAS\\_Agosto\\_de\\_2010](https://www.academia.edu/11913746/T%C3%89CNICA_HISTOL%C3%93GICA_C%C3%89SAR_EDUARDO_MONTALVO_ARENAS_Agosto_de_2010). Accedido 7 de diciembre de 2023.
31. Widbiller, M., et al. «Histology of human teeth: Standard and specific staining methods revisited». *Archives of Oral Biology*, vol. 127, julio de 2021, p. 105136. *ScienceDirect*, <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2021.105136>.