



Universidad
Continental

Histoquímica Especial

Guías de Laboratorio



Visión

Ser una de las 10 mejores universidades privadas del Perú al año 2020, reconocidos por nuestra excelencia académica y vocación de servicio, líderes en formación integral, con perspectiva global; promoviendo la competitividad del país.

Misión

Somos una universidad privada, innovadora y comprometida con el desarrollo del Perú, que se dedica a formar personas competentes, íntegras y emprendedoras, con visión internacional; para que se conviertan en ciudadanos responsables e impulsen el desarrollo de sus comunidades, impartiendo experiencias de aprendizaje vivificantes e inspiradoras; y generando una alta valoración mutua entre todos los grupos de interés.



Índice

VISIÓN	2
MISIÓN	2
NORMAS BÁSICAS DE LABORATORIO	3
UNIDAD I	
PRACTICA 1 Histotecnología - Definición y Objetivos Ambientes de Laboratorio de A, Patológica.	5
PRACTICA 2 Control de Calidad en el Laboratorio de Anatomía Patológica.	8
PRACTICA 3 Etapas de las Técnicas Histológicas	11
PRACTICA 4 Inclusión y cortes	14
UNIDAD II	
PRACTICA 5 Coloración Hematoxilina – Eosina	17
PRACTICA 6 Bases de Histoquímica	21
PRACTICA 7 Coloración Tricromica de Masson	23
PRACTICA 8 Coloración de Ácido Periódico de Schiff	27
UNIDAD III	
PRACTICA 9 Coloración de Zhiel Neelsen para microorganismos ácido alcohol resistente	31
PRACTICA 10 Coloración de Giemsa	35
PRACTICA 11 Coloración de Rojo Congo de Bennhold	38
PRACTICA 12 Coloración de Perls	41
UNIDAD IV	
PRACTICA 13 Coloración de Inmunohistoquímica	44
PRACTICA 14 Recuperación antigénica	47
PRACTICA 15 Marcadores inmunohistoquímicos para linfomas	49
PRACTICA 16 Marcadores inmunohistoquímicos para mama	51



Normas Básicas de Laboratorio

1. Maneje todo material como potencialmente infectante.
2. Llevar gafas protectoras y si es posible guantes protectores.
3. Un accidente por pequeño que sea debe comunicarse al docente responsable de la práctica de laboratorio.
4. Pipetear y medir los volúmenes de sustancias volátiles o de ácidos bajo una campana extractora y protegido con una máscara antigases, o como mínimo realizarlo en locales bien ventilados.
5. Lavar con agua fría abundantemente y de forma inmediata las salpicaduras sobre la piel, lavar con polietilenglicol las sustancias liofílicas. No utilizar nunca disolventes orgánicos debido al peligro de reabsorción
6. Los ojos que hayan entrado en contacto con sustancias cáusticas se lavan con un chorro suave de agua (o con una ducha especial para ojos) poniendo a la persona afectada en posición horizontal y protegiendo el ojo no afectado. Abrir ampliamente los párpados y mover el ojo dañado en todas direcciones. A continuación consultar inmediatamente al oculista indicando la sustancia cáustica.
7. Quitarse inmediatamente las prendas de vestir que estén impregnadas de la sustancia corrosiva.
8. No comer, no beber, no fumar en el laboratorio de procedimientos histológicos.
9. Protección preventiva del trabajo en el caso de sustancias y preparaciones cancerígenas.
10. . Lávese cuidadosamente las manos antes y después de cada procedimiento, con estricto rigor si se tiene contacto con material patógeno.



Primera Unidad

Guía de práctica N° 1

Histotecnología- Definición Y Objetivos

Ambientes del Laboratorio de Anatomía Patológica

Sección :

Docente: Lic. Silvia Castro Grande

Fecha : .16/03/2017

Duración: 2 horas

- **Instrucciones:** Ser puntuales. Asistir a la práctica debidamente uniformados.
- Traer la guía de práctica en un folder.

1. Propósito /Objetivo:

Reconoce y discrimina la definición y los objetivos de la Histotecnología.

Realiza la práctica de aplicación y reconocimiento del Laboratorio de Anatomía patológica.

2. Fundamento Teórico

DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA PATOLOGÍA DEL HOSPITAL NACIONAL RAMIRO PRIALÉ PRIALÉ - ESSALUD HUANCAYO.

El Departamento de Patología, es el órgano operativo de línea encargado de brindar diagnóstico patológico integral de la más alta calidad a la población usuaria, mediante el estudio macroscópico y microscópico de las piezas quirúrgicas, biopsias y necropsias; y del estudio a nivel citológico.

Está integrado por Médicos Anatomopatólogos, Tecnólogos Médicos Especialistas, Técnicos y Auxiliares de las Ciencias de la Salud, así como personal de Apoyo Administrativo y de Servicio.

Ubicación y áreas físicas del Departamento de Patología.

El Departamento de Patología se encuentra ubicado en el primer piso.

Las áreas físicas con que cuenta el Departamento de Patología son:

- Oficina de la Jefatura del Departamento
- Servicio de Citología Exfoliativa
- Servicio de Patología Quirúrgica
- Servicio de Necropsia



3. Equipos, Materiales y Reactivos

Para esta práctica los alumnos harán reconocimiento del Servicio de Anatomía Patológica, **observaran:**

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Procesador de tejidos		
2	Micrótomo		
3	Sistema de inclusión de tejidos		

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Probetas		
2	Matraz		
3	Fiola		
4	Lápiz punta diamante		
5	Pipetas		

3.2. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Alcohol Etilico		
2	Acido Clorhídrico		
3	Xilol		
4	Hematoxilina		
5	Eosina		

4. Indicaciones/instrucciones:

2.1 Usar guardapolvo

2.2 Contar con elementos de protección (guantes, mascarilla)

5. Procedimientos:

El alumno hará reconocimiento de las áreas del Servicio de Anatomía Patológica y la función de cada una de ellas, de este modo discriminara los objetivos de cada procedimiento que se realizan en cada área.

6. Resultados

El alumno conoce lo siguiente:

Área de Patología quirúrgica se procesan biopsias, piezas operatorias y necropsias para determinar si el paciente tiene una lesión maligna o no.

Área de Citopatología se procesan muestras ginecológicas (Papanicolaou) y muestra no ginecológicas (líquidos corporales, esputos, BAAF de tiroides, etc.)

Área de necropsia, para determinar la causa de muerte de una persona.

7. Conclusiones

7.1 El estudiante conozca los objetivos y función de cada área del Servicio de Anatomía Patológica.

7.2 El estudiante tiene la capacidad de realizar un flujograma del Servicio de Anatomía Patológica.



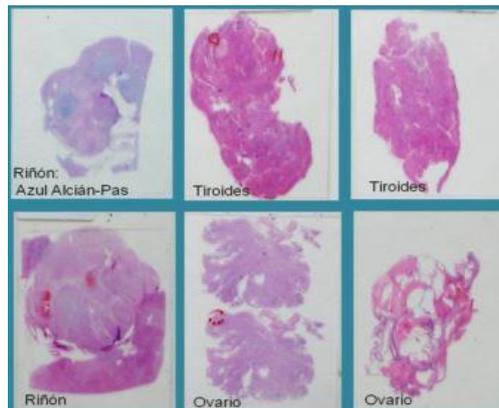
8. Interrogantes:

- 1.- Mencione las labores de cada área del Servicio de Anatomía Patológica.
- 2.- Mencione por lo menos 3 equipos más utilizados en el Servicio de Anatomía patológica.
- 3.- Con respecto a la visita al Laboratorio de Anatomía Patológica, ¿Cuál es la coloración de rutina?
- 4.- Realizar un flujograma del Área del Servicio de Anatomía Patológica.

Bibliografía:

www.netlab.com.ec/publicación/MANUAL-PROCEDIMIENTOS-ANATOMÍA PATOLÓGICA.PDF

- www.elsevier.es (pág 35 al 65)





Guía de práctica N° 2

Control De Calidad En El Laboratorio De Anatomía Patológica

Sección :

Docente: Lic. Silvia Castro Grande

Fecha : 23/03/2017

Duración: 2 h

Instrucciones: Ser puntuales. Asistir a la práctica debidamente uniformados.
Traer la guía de práctica en un folder.

1. Propósito / objetivo:

Justifica el cumplimiento de las normas y procedimientos vigentes de Control de Calidad en el Laboratorio de Histoquímica.

2. Fundamento Teórico

UN PROGRAMA DE GARANTIA DE LA CALIDAD

Para obtener los mejores resultados posibles en los preparados histológicos, un programa de garantía de la calidad deberá incluir distintos aspectos del funcionamiento adecuado del laboratorio de procedimientos histológicos del departamento de patología.

Un programa de este tipo debe tener tres sistemas, que se resumen a continuación:

1. Sistema de Mejoramiento continuo de la calidad

- A. Creación de círculos de calidad
- B. Elección del método histológico, histoquímica o inmunohistoquímica.
- C. Desarrollo de un manual de procedimientos estándar
- D. Programas de entrenamiento y actualización permanente para el personal del laboratorio de procedimientos histológicos del Departamento de Patología.
- E. Recepción adecuada de la muestra y de las solicitudes de estudio anatomopatológico.

2. Sistema de control de calidad interno

- A. Adquisición de equipos, de productos químicos y colorantes de calidad para el laboratorio.
- B. Procedimientos para la detección de errores, tales como lámina problema, lámina patrón, lámina testigo, lámina blanco.
- C. Mantenimiento preventivo de instrumentos y equipos.
- D. Decisiones a tomar cuando se presentan resultados fuera de control.



3. Sistema de control de calidad externo.

Documentación de la ejecución y resultados del programa de garantía de calidad.

Elección De Un Método Histológico O Histoquímico

Para implementar un método histológico o histoquímico, es necesario que se estandarice al máximo posible, es cuestión de probar los métodos más asequibles a nuestra realidad para determinar el que tenga precisión en condiciones óptimas y normales de trabajo. A continuación representamos los diversos factores que influyen en la selección de un método:

Todos estos factores se pueden resumir en los siguientes:

1. Debe ser técnicamente simple y de buen rendimiento.
2. Los reactivos deben ser inocuos para el operador.
3. Debe ser de bajo costo.
4. Debe ser sensible, es decir, que tenga capacidad para detectar cantidades pequeñas de la muestra o sustancia que se quiere demostrar.
5. Debe tener precisión.
6. Debe tener exactitud.
7. Debe ser rápido.

Estos siete factores son los más importantes para la elección de un método "ideal".

4. Equipos, Materiales y Reactivos

Se revisará manuales de: Manual de Organización y funciones, Manual de Bioseguridad y Manual de control de calidad tanto de insumos como de Equipos.

4.1. Equipos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Balanza		
2			

5. Indicaciones/instrucciones:

- 2.1 Contar con guardapolvo y carnet de identificación
- 2.2 Contar con elementos de protección.



6. Procedimientos:

Primero: Revisar los manuales de bioseguridad, de organización y funciones, protocolos de trabajo.

Segundo: Conocer la funciones de un Tecnólogo Médico en el área de Anatomía Patológica.

Tercero: Realizar controles de calidad a los alcoholes y reactivos.

7. Resultados

Aplicar las normas de control de calidad en el laboratorio en cada procedimiento que se realice.

8. Conclusiones

Es muy importante que los alumnos expliquen las normas y procedimientos vigentes de Control de Calidad en el Laboratorio de Anatomía Patológica, para realizar un trabajo eficiente a lo largo de su formación.

9. Interrogantes:

- 1.- ¿Cómo se realiza el control de calidad en área de patología quirúrgica, considerando la fase:
Pre-analítica
Analítica
Post-analítica

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

http://www.conganat.org/10congreso/trabajo.asp?id_trabajo=1977&tipo=4



Guía de práctica N° 3:

Etapas de las Técnicas Histológicas

Sección :

Docente: Lic. Silvia Castro Grande

Fecha : 30/03/2017

Duración: 2 h

Instrucciones: Ser puntuales. Asistir a la práctica debidamente uniformados.
Traer la guía de práctica en un folder.

1. Propósito /Objetivo:

Conocer los tipos de muestras que se trabajan en el Servicio de Anatomía Patológica y el fijador con la que se mantendrán dichas muestras para poder realizar cortes histológicos y la coloración para un diagnóstico adecuado.

2. Fundamento Teórico

Los pasos de las técnicas microscópicas para obtener un preparado histológico permanente (láminas) son:

1. Toma de la muestra.
2. Fijación.
3. Deshidratación
4. Aclaramiento
4. Inclusión.
5. Corte.
6. Coloración.
7. Montaje

TOMA DE LA MUESTRA

Obtención de material humano:

- Necropsias: son las piezas que se obtienen de un cadáver.

- Biopsias: son trozos de tejido que se obtienen de un sujeto con vida con el objeto de estudiarlos al microscopio y efectuar un diagnóstico histopatológico.

- Piezas operadas: los tejidos que han sido extraídos de las intervenciones quirúrgicas, generalmente tumores u órganos inflamados, también se pueden realizar trabajos de investigación de los casos complejos.

FIJACIÓN

A fin de evitar la destrucción de las células por sus propias enzimas (autólisis), o por bacterias, los tejidos separados del cuerpo de un animal (especímenes) deben ser fijados, inmediatamente después de ser



cortados. Este tratamiento denominado fijación tiene por finalidad endurecer los tejidos, volviéndolos más resistentes para las etapas subsiguientes de las técnicas microscópicas.

DESHIDRATACIÓN

Las piezas al ser retiradas del fijador, o después de haberlas lavado, están embebidas en agua; impidiendo que sean penetradas por la parafina. Por lo tanto, en primer lugar, debemos deshidratar los tejidos sumergiéndolos en líquidos anhidros, ávidos de agua.

Impregnación por un disolvente de la parafina (aclaración)

Las piezas perfectamente deshidratadas se sumergen en el disolvente, xilol o toluol (este último es el que nosotros utilizamos). Al agregar el toluol, no debe aparecer ninguna turbidez. Si se pone blanco-lechoso es que la deshidratación no ha sido bien lograda y debemos repetir el baño de alcohol absoluto cerciorándonos que realmente lo sea: una gota de alcohol agregada a unos ml de toluol no debe enturbiarlo.

Penetración de la parafina

Se sumergen las piezas en parafina (56-58° de punto de fusión), mantenida líquida en la estufa a no más de 62°C. Después de 1 a 2 horas se renueva la parafina.

Todo este proceso se realiza en el procesador automático de tejidos.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Procesador automático de tejidos		

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Matraz	1000 ml	
2	Probeta	2000 ml	
3	Alcoholes corriente		
4	Alcoholes absolutos		
5	Xilol		

3.2. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Formol 40%	Solución concentrada	100ml
2	Fosfato dibásico de sodio	Polvo	6.5 g
3	Fosfato monobásico de sodio	Polvo	4.0 g

4. Indicaciones/instrucciones:

- 2.1 Usar guardapolvo
- 2.2 Contar con protección adecuada

5. Procedimientos:

Solución de formol al 10%



Formol comercial al 37-40% 250 ml.

Agua corriente 750 ml.

FÓRMULA: $C1 \times V1 = C2 \times V2$

Formol bufferado

Formol comercial 37 – 40% 100ml

Fosfato dibásico de sodio 6.5 g

Fosfato monobásico de sodio 4.0 g

6. Resultados

Preparen los reactivos para la fijación de tejidos y para el procesador de tejidos.

7. Conclusiones:

Los alumnos conocen los tipos de muestra, fijadores que se usan para conservarlos y como es el proceso para obtener buenos resultados.

8. Interrogantes:

- 1.- ¿Qué muestras de reciben en Patología Quirúrgica?
- 2.- Si recibimos una muestra sin formol, ¿qué debemos hacer?
- 3.- ¿Por qué es importante la macroscopía?
- 4.- ¿Cuál es el fundamento del procesador automático de tejidos? Realice un esquema de los pasos que se dan en dicho quipos.

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- <http://www.netlab.com.ec/publicaciones/MANUAL-PROCEDIMIENTOS-ANATOMIA-PATOLOGICA.pdf>



Guía de práctica N° 4

Inclusión y Cortes

Sección :

Docente: Lic. Silvia Castro Grande

Fecha : 06/04/2017

Duración: 2 horas

Instrucciones: Ser puntuales. Asistir a la práctica debidamente uniformados.
Traer la guía de práctica en un folder.

1. Propósito /Objetivo:

Realiza y analiza la inclusión de piezas provenientes de necropsias, biopsias y piezas quirúrgicas.

Realiza cortes de tejido utilizando el micrótopo.

2. Fundamento Teórico

Se realiza en el Centro de Inclusión de Tejidos que tiene 3 cuerpos.

Para realizar una buena inclusión en parafina, se debe tener en cuenta lo siguiente:

Orientar adecuadamente el tejido, teniendo en cuenta que órgano es, conocer la histología del tejido.

Que la muestra está correctamente procesada.

Al momento de incluir si son varios tejidos se debe colocar todos al mismo nivel, de lo contrario al momento del corte, por ejemplo si incluimos 4 biopsias y no están al mismo nivel, en el corte solo aparecerán 3 biopsias, por eso es muy importante la inclusión.

Tener cuidado de no confundir las muestras, trabajar con cuidado.





3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Sistema de Inclusión de tejidos	De 3 cuerpos.	
2	Micrótomo		
3	Flotador de tejidos		

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Moldes metálicos de inclusión		
2	Pinza		
3	Cassette de plástico		
4	Láminas portaobjetos		
5	Lápiz punta diamante		

3.2. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Parafina sólida		
2			

4. Indicaciones/instrucciones:

- 2.1 Usar guardapolvo
- 2.2 Contar con protección adecuada.

5. Procedimientos:

Primero:

Encender el equipo de inclusión
Retirar las muestras procesadas del procesador automático de tejidos.
Colocar en la bandeja de inmersión que debe estar a 60°C para mantener la parafina caliente.

Segundo:

Cuenta con un centro de inclusión de muestra, consta de un depósito de parafina que se encuentra a 60 °C, lente y luz para poder orientar correctamente las piezas. Se incluye en los moldes de inclusión.

Tercero:

Llevar a la bandeja refrigerante para endurecer la parafina y obtener los tacos de parafina para poder realizar los cortes en el micrótomo.

Cuarto:

Enfriar los tacos de parafina en la refrigerada para poder realizar los cortes.

Cuarto:

Utiliza el micrótomo para realizar los cortes.

6. Resultados

1. La inclusión de diferentes tejidos y la obtención de los cassettes de parafina para poder realizar los cortes.
2. La obtención de los cortes con el micrótomo a 3 micras.

7. Conclusiones

- 7.1. El alumno realiza y analiza los cuidados al momento de la inclusión y del corte de tejidos utilizando el micrótomo.



8. Interrogantes:

- 1.- Menciona 3 criterios para realizar una buena inclusión.
- 2.- Si al terminar el proceso, las muestras salen "crudas", ¿qué haces?
- 3.- Si al momento de incluir las muestras y formar los tacos, te das cuenta que uno de las muestras esta al fondo, no está al mismo nivel, ¿Qué haces?
- 4.- Señale las partes del sistema de inclusión:



Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

<https://es.slideshare.net/lulus2923/preparacin-de-tejidos>



Segunda Unidad

Guía de práctica N° 5

Coloración Hematoxilina - Eosina

Sección :	Docente: Lic. Silvia Castro Grande
Fecha : .13/04/2017	Duración: 2 horas

Instrucciones: Ser puntuales. Asistir a la práctica debidamente uniformados.
Traer la guía de práctica en un folder.

1. Propósito /Objetivo:

Prepara y realiza la coloración de Hematoxilina y Eosina.

2. Fundamento Teórico

En términos genéricos, los tejidos de origen animal son incoloros, la finalidad de utilizar coloraciones en los preparados histológicos es poder contrastar y diferenciar estructuras que por lo general no poseen color propio.

El fundamento de cualquier método de tinción radica en la propiedad que poseen todos los tejidos para incorporar y fijar de modo variable diversas sustancias coloreadas llamadas colorantes. Una agrupación atómica aromática incapaz de colorear cuando se une desde el punto de vista químico con un **cromóforo** se convierte en un **cromógeno**, que posee color propio y es capaz de transferir ese color a cualquier estructura celular que posea afinidad o atracción por esa sustancia colorante. Los principales grupos cromóforos conocidos son los radicales etileno ($>C=C<$), carbonilo ($>C=O$), tiazólico ($>C=S$), imino ($>C=N$), azoico ($-N=N-$), nitroso ($-N=O$), nitro ($-NO_2$) y en general cualquier anillo derivado de las quinonas.

La conversión de un cromógeno en colorante está vinculada a la adición sobre la molécula aromática, de otros grupos atómicos que le confieren la propiedad de disociarse de manera electrolítica o de formar sales con los tejidos. Estos radicales reciben la denominación genérica de grupos **auxocromos** (potenciadores de color).

Según la naturaleza de la vinculación molecular entre los colorantes y los tejidos, existen tres mecanismos generales: de carácter físico, fisicoquímico o histoquímica. Estos mecanismos combinados entre sí en distinta medida explican las particularidades de las principales técnicas de tinción en histología.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Balanza	De precisión	1
2	Cocina eléctrica	2 hornillas	1
3	Microscopio		

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Probeta	50 ml	1
2	Matraz	1000 ml	1

**3.2. Reactivos**

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Alcohol Etílico 96°C		50 ml
2	Hematoxilina	Polvo	5 g
3	Oxido rojo de mercurio	Polvo	2.5 g
4	Alumbre de potasio	Sal	100 g
5	Ácido clorhídrico	Puro	10 ml
6	Hidróxido de amonio	Puro	0.3 ml
7	Agua	Destilada	1000 ml
8	Eosina	Polvo	5 g

4. Indicaciones/instrucciones:

- 2.1 Usar guardapolvo
- 2.2 Contar con protección adecuada.

5. Procedimientos:**Primero:**

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

Cada uno de los componentes de la Hematoxilina cumple una función, el Agua destilada es solvente del mordiente, el Alcohol 96° es solvente de la hematoxilina, Alumbre de Potasio y Aluminio es mordiente, Oxido de Mercurio que oxida la Hematoxilina a **Hemateína** que es su ingrediente activo.

Segundo:**Solución stock de eosina acuosa al 1%**

Eosina amarilla (C.I. 45380)	10,0 g
Agua corriente	1000,0 mL

Disolver y adicionar:

Tercero**Solución colorante de trabajo de eosina**

Solución stock de eosina acuosa al 1%	1 vol.
Alcohol al 80%	3 vol.

Adicionar 0,5 mL de ácido acético glacial por cada 100,0 mL de solución colorante.



Solución de agua ácida al 1%

Agua destilada.	100,0 mL
Ácido clorhídrico	1,0 mL

Cuarto:

Solución de agua amoniacal al 3%.

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

MICROTOMIA: Cortar secciones de parafina de 3 a 4 micrómetros de grosor.

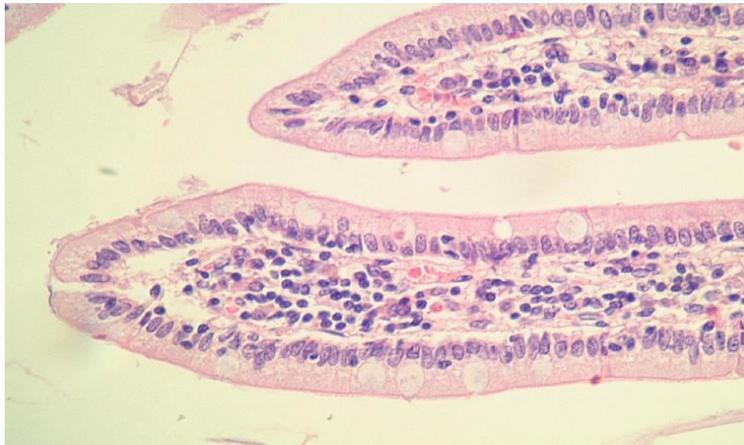
Quinto: Coloración

Colocar las láminas en la estufa a 60 – 65°C por 25 a 30 minutos. Para quitar la parafina. (Desparafinar)

1. Xilol 1 durante 5 minutos.
2. Xilol 2 durante 5 minutos.
3. Tratar los cortes en alcohol absoluto 1 durante 5 minutos.
4. Tratar los cortes en alcohol absoluto 2 durante 5 minutos.
5. Tratar los cortes en el alcohol corriente 1 de 96° 1 durante 5 minutos.
6. Tratar los cortes en el alcohol corriente 2 de 80° durante 5 minutos.
7. Lavar en agua corriente durante 5 minutos.
8. Colorear con la hematoxilina de Harris durante 5 minutos.
9. Lavar en agua corriente.
10. Sumergir los cortes, rápidamente, 1 vez en el agua ácida al 1%.
11. Lavar inmediatamente con agua corriente.
12. Sumergir los cortes, rápidamente 3 veces en agua carbonatada al 1%.
13. Lavar inmediatamente con agua corriente y verificar si los núcleos están bien teñidos observando al microscopio.
14. Colorear con la solución de trabajo de eosina, durante 30 segundos.
15. Lavar en agua corriente.
16. Tratar los cortes, rápidamente 5 veces en el alcohol corriente 1.
17. Tratar los cortes, rápidamente 5 veces en el alcohol corriente 2.
18. Tratar los cortes en el alcohol absoluto 1 durante 5 minutos.
19. Tratar los cortes en el alcohol absoluto 2 durante 5 minutos.
20. Tratar los cortes en el xilol 1 durante 5 minutos.
21. Tratar los cortes en el xilol 2 durante 5 minutos.
22. Montar en bálsamo de Canadá.

6. Resultados

Las estructuras basófilas se observan de color azul y las estructuras eosinófilas de color rosado.



7. Conclusiones:

- 7.1. El alumno prepara los reactivos aplicando los saberes previos de control de calidad,
- 7.2 El alumno realiza la coloración estandarizando tiempos y observando al microscopio.

8. Interrogantes:

- 1.- ¿Qué haces si te pasaste el tiempo en la hematoxilina?
- 2.- ¿Qué función tiene el agua ácida?
- 3.- ¿Qué función tiene el agua amoniacal?
- 4.- ¿En qué paso de la coloración se realiza el control de calidad, para ver si la hematoxilina ha coloreado bien?

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

<http://www.cemic.edu.ar/descargas/repositorio/Guia%201%20Microscop%C3%ADa%20y%20tecnicas%20de%20coloraci%C3%B3n.pdf> (pág. 6,7 y 8)

<http://www.anatomohistologia.uns.edu.ar/modtecni.htm>



Guía de práctica N° 6

Bases de la Histoquímica

Sección :

Docente: Lic. Silvia Castro Grande

Fecha : .20/04/2017

Duración: 2 horas

Instrucciones: Ser puntuales. Asistir a la práctica debidamente uniformados.
Traer la guía de práctica en un folder.

1. Propósito /Objetivo:

Define las Bases de la Histoquímica

2. Fundamento Teórico

Histoquímica es el estudio químico de los tejidos independientemente del método de análisis empleado. En la práctica se emplea la palabra para designar el método junto con el auxilio de los microscopios ópticos (MO) y electrónico (ME).

Esta técnica permite la identificación y localización de compuestos o radicales químicos en las células y tejidos.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Ac. Periódico		
2	Azul de metileno		
3	Reactivo de Schiff		
4	Giemsa		
5	Azul de anilina		
6			

4. Indicaciones/instrucciones:

2.1 Usar guardapolvo

2.3 Contar con protección adecuada.

5. Procedimientos:

Primero:

Reconocimiento de los reactivos para realizar coloración de histoquímica

Segundo:

Preparar los reactivos necesarios para las coloraciones de histoquímica.

Tercero:

Preparar los controles para las coloraciones de histoquímica



6. Resultados:

El alumno con el uso del microscopio va a diferenciar la utilidad diagnóstica de cada coloración de histoquímica.

7. Conclusiones:

- 7.1. El alumno prepara los reactivos para la coloración de histoquímica.
- 7.2 El alumno diferencia la coloración de H-E y coloración histoquímica.

8. Interrogantes:

- 1.- Mencione dos coloraciones de histoquímica más usadas en el laboratorio de histoquímica.
- 2.- ¿Cómo realizas el control de calidad de los reactivos?
- 3.- ¿Qué es una lámina control?

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

<https://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/5-histoquimica.php>



Guía de práctica N° 7

Coloración Tricrómica de Masson

Sección :

Docente: Lic. Silvia Castro Grande

Fecha : .27/04/2017

Duración: 2 horas

Instrucciones: Ser puntuales. Asistir a la práctica debidamente uniformados.
Traer la guía de práctica en un folder.

1. Propósito /Objetivo:

Aplica el método de coloración de Tricrómica de Masson para demostrar la presencia de las fibras colágenas en cortes histológicos.

Utiliza del microscopio para observar la coloración

2. Fundamento Teórico

El **Tricrómico de Masson**, al igual que otros colorantes tricrómicos, es una tinción especial que permite visualizar claramente las fibras de colágeno que forman fibras gruesas o haces, diseñados para dar resistencia; también evidencia, aunque en menor intensidad, las fibras reticulares. Se emplean tres colorantes para diferenciar el núcleo celular, el citoplasma y las fibras de colágeno.

FUNDAMENTO: Primeramente, se tiñen las secciones con un tinte ácido tal como escarlata de Biebrich. Todos los elementos acidófilos del tejido tales como el citoplasma, el músculo y el colágeno se unirán a los tintes ácidos. Las secciones entonces se tratan con ácido fosfotúngstico y/o fosfomolibdico. Ya que el citoplasma es mucho menos permeable que el colágeno, los ácidos fosfotúngsticos y fosfomolibdicos permiten que la escarlata de Biebrich difunda del colágeno pero no del citoplasma. Los ácidos fosfotúngsticos y fosfomolibdicos tienen numerosos grupos ácidos que probablemente actúen como medio de unión entre el colágeno y el azul de la anilina, que es el tinte del colágeno. Probablemente, el pH de la solución fosfotúngstico/fosfomolibdico también aumente la coloración y ayude al colágeno en la difusión o el retiro de los colorantes.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopio óptico		
2	Balanza analítica		
3			

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Matraz	1000 ml	
2	Probeta	100 ml	
3			

**3.2. Reactivos**

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Hematoxilina		
2	Fucsina ácida		
3	Beibreich scarlata		
4	Azul de anilina		
5	Ácido fosfomolibdico		
6	Ácido fosfotúngstico		
7	Cloruro férrico		
8	Solución de Bouin		
9	Ácido acético		

4. Indicaciones/instrucciones:

- 2.1 Usar guardapolvo
- 2.4 Contar con protección adecuada.

5. Procedimientos:**Primero:****PREPARACIÓN DE SOLUCIONES:****Solución de Bouin**

Solución acuosa saturada de ácido pícrico (C.I. 10305)	75,0 mL
Formaldehído comercial (37-40%)	25,0 mL
Ácido acético glacial	5,0 mL

Solución A de hematoxilina férrica de Weigert

Hematoxilina (C.I. 75290)	1,0 g
Alcohol absoluto	100,0 mL

Solución B de hematoxilina férrica de Weigert

Cloruro férrico 29%	4,0 mL
Agua destilada	95,0 mL
Ácido clorhídrico concentrado	1,0 mL

Solución de trabajo de hematoxilina férrica de Weigert

Solución A	1 vol.
Solución B	1 vol.



Solución de fucsina ácida - escarlata de Biebrich

Solución acuosa de escarlata de Biebrich (C.I. 26905) al 1%	90,0 mL
Solución acuosa de fucsina ácida (C.I. 17200) al 1%	10,0 mL
Ácido acético glacial	1,0 mL

Solución de ácido fosfomolibdico - ácido fosfotúngstico

Ácido fosfomolibdico	5,0 g
Ácido fosfotúngstico	5,0 g
Agua destilada	200,0 mL

Solución de azul de anilina

Azul anilina (C.I. 707)	2,5 g
Ácido acético	2,0 mL
Agua destilada	100,0 mL

Solución de ácido acético al 1%

Ácido acético glacial	1,0 mL
Agua destilada c.s.p	100,0 mL

Segundo

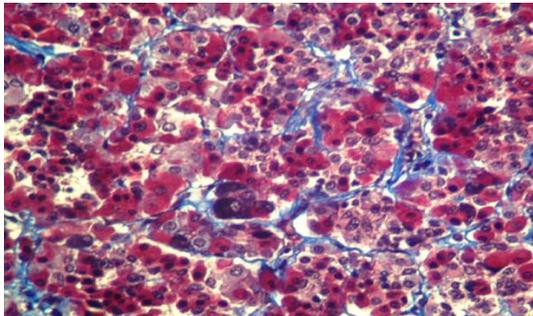
1. Desparafinar e hidratar hasta agua corriente.
2. Mordentar en fijador de Bouin por 20 minutos a 56°C, o durante toda la noche a temperatura ambiente.
3. Enfriar y lavar en agua corriente hasta que desaparezca el color amarillento.
4. Solución de hematoxilina férrica de Weigert por 10 minutos. Lavar en agua corriente.
O Hematoxilina de Harris por 8 minutos.
5. Enjuagar en agua destilada.
6. Solución Escarlata de Biebrich - Fucsina ácida por 3 minutos.
7. Enjuagar con agua destilada.



8. Solución de ácido fosfomolibdico-ácido fosfotúngstico por 10 a 15 minutos antes de la solución de azul de anilina. Decantar la solución. No se lava.
9. Solución azul de anilina por 5 a 10 minutos.
10. Lavar en agua destilada.
11. Agua acética al 1%, echar y lavar rápidamente.
12. Secar y Montar con bálsamo.

6. Resultados:

Núcleo: color negro, **citoplasma:** queratina, fibras musculares de color rojo y **fibras colágenas:** de color azul.



7. Conclusiones:

- 7.1. El alumno prepara los reactivos para la coloración de Tricrómica de Masson.
- 7.2 El alumno realiza la coloración y reconoce las fibras colágenas usando el microscopio óptico.

8. Interrogantes:

- 1.- Fundamento de la Coloración Tricrómica de Masson, usando un mapa mental.
- 2.- ¿Qué función tiene la Solución de Bouin?
- 3.- ¿Cuál es la utilidad de la Tricrómica de Masson?
- 4.- En el dibujo señale las estructuras que colorean los tres colorantes usados.

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

https://es.wikipedia.org/wiki/Tinci%C3%B3n_tricr%C3%B3mica_de_Masson



Guía de práctica N° 8

Coloración de Ácido Peryódico de Schiff

Sección :

Docente: Lic. Silvia Castro Grande

Fecha : .04/05/2017

Duración: 2 horas

Instrucciones: Ser puntuales. Asistir a la práctica debidamente uniformados.
Traer la guía de práctica en un folder.

1. Propósito /Objetivo:

Aplica el método de coloración de P.A.S. para demostrar la presencia de hidratos de carbono en cortes histológicos.

Utiliza el microscopio para observar la coloración.

2. Fundamento Teórico

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

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopio óptico		
2	Balanza analítica		
3			

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Matraz	1000 ml	
2	Probeta	100 ml	
3	Láminas portaobjeto		
4	Laminillas cubreobjetos 22x40 mm		

3.2. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Hematoxilina		
2	Fucsina básica		
3	Bisulfito de sodio		
4	Ácido clorhídrico		
5	Alcoholes corriente		
6	Alcoholes absolutos		
7	Xilol		



4. Indicaciones/instrucciones:

- 2.1 Usar guardapolvo
- 2.5 Contar con protección adecuada.

5. Procedimientos:

Primero:

Microtomía: Hacer cortes en parafina de 3 micrómetros de grosor. De la muestra objeto de estudio se hará una lámina, Simultáneamente se correrá una lámina patrón para conocer la validez de la prueba, para este último se puede usar un corte de duodeno.

Segundo:

Reactivos:

Solución de ácido clorhídrico 1N

Ácido clorhídrico concentrado de peso específico 1,19	8,35 mL
Agua destilada c.s.p.	100,00 mL

Reactivo de Schiff

Fucsina básica (C.I. 42510)	0,5 g
Ácido Clorhídrico 1N	10,0 mL
Metabisulfito de sodio o de potasio ó disulfito de sodio o de potasio	0,5 g
Agua destilada	100,00 mL
Carbón activado	0,25 g

Disolver la fucsina básica en el agua destilada caliente. Llevar a punto de ebullición. Enfriar y agregar el disulfito de sodio y agitar la mezcla; luego añadir el ácido clorhídrico 1N y agitar constantemente por espacio de 20 minutos. Dejar en la oscuridad en frasco herméticamente cerrado hasta el día siguiente. Después de este tiempo la solución ha adquirido una ligera coloración amarillenta, se recomienda entonces añadir el carbón activado y agitar. Finalmente se filtra y se guarda en frascos color caramelo y de cierre hermético.

Tercero:

Solución acuosa de ácido peryódico al 0.5%

Cristales de ácido peryódico	0,5 g
Agua destilada c.s.p	100,0 mL

Solución colorante de Hematoxilina de Harris.

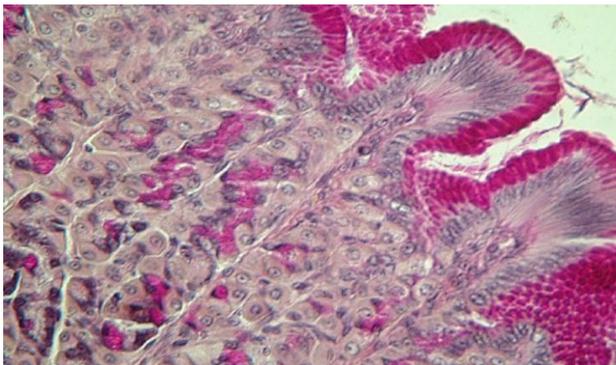
Cuarto:

1. Desparafinar e hidratar las secciones hasta agua corriente.
2. Tratar la lámina problema y el patrón con ácido peryódico durante 10 minutos;
3. Lavar con agua destilada.
4. Tratar con el reactivo de Schiff de 5 a 10 minutos.
5. Lavar con agua corriente y dejar en agua ligeramente tibia por 5 minutos.
6. Colocar en hematoxilina de Harris durante 2 minutos
7. Lavar en agua corriente.
8. Deshidratar rápidamente
9. Aclarar y montar en bálsamo de Canadá.

6. Resultados:

Sustancias P.A.S. positivas de color rojo magenta, núcleos de color azul.

Dentro de las sustancias P.A.S. positivas tenemos las siguientes: Glucógeno, reticulina, mucina, membrana basal, glucocálix, glándulas mucosas. También son positivas a esta reacción el Histoplasma capsulatum, Criptococcus neoformans, Cándida albicans, entre otros.

**7. Conclusiones:**

- 7.1. El alumno prepara los reactivos para la coloración de PAS.
- 7.2 El alumno realiza la coloración y reconoce los carbohidratos usando el microscopio óptico.



8. Interrogantes:

- 1.- ¿Cuál es el fundamento de la coloración PAS?
- 2.- Mencione 3 aplicaciones de la coloración de PAS.
- 3.- ¿Qué gas se forma al preparar el reactivo de schif?
- 4.- En la imagen anterior, señale los carbohidratos y qué zona de la muestra marcan.

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

<https://www.slideshare.net/lilianambeltran/cido-peryodico-schiff-pas>



Unidad III

Guía de práctica N° 9

Coloración de Ziehl-Neelsen para Microorganismos Ácido-Alcohol Resistentes

Sección :	Docente: Lic. Silvia Castro Grande
Fecha : .11/05/2017	Duración: 2 horas

Instrucciones: Ser puntuales. Asistir a la práctica debidamente uniformados.
Traer la guía de práctica en un folder.

1. Propósito /Objetivo:

Desarrolla el método de coloración de Ziehl Neelsen para demostrar la presencia de *Mycobacterium tuberculosis* en cortes histológicos.

Utiliza el microscopio para observar la coloración.

2. Fundamento Teórico

La **tinción de Ziehl-Neelsen (BAAR)** es una técnica de tinción diferencial rápida y económica, para la identificación de microorganismos patógenos, por ejemplo: *M. tuberculosis*

Fue descrita por primera vez por dos médicos alemanes, Franz Ziehl (1859 a1926), un bacteriólogo y Friedrich Neelsen (1854 a 1894), un patólogo.

Fundamento

Este método se basa en que la pared celular de la bacteria contiene ácido graso (ácido micólico) de cadena larga (50 a 90 átomos de carbono) que les confieren la propiedad de resistir la decoloración con alcohol-ácido, después de la tinción con colorantes básicos. Por esto se denominan ácido-alcohol resistente BAAR. Como:

Mycobacterium tuberculosis o (bacteria) coccídeos como *Cryptosporidium*.

La técnica de Z-N fuerza la penetración de la Fucsina básica en la pared celular mediante la acción combinada del fenol y el calor, que aumentan la fluidez de la capa de ácidos micólicos; el calor "derrite" el componente ceroso y el fenol actúa a modo de disolvente, permitiendo el paso del colorante básico que se une a los ácidos micólicos con carga negativa. Cuando cesa la aplicación de calor y/o se elimina el exceso de fenol mediante un lavado con agua, la pared recupera su consistencia cerosa, pero las moléculas de fucsina quedan atrapadas en su espesor.

Con la coloración de Ziehl Neelsen se observan como bastoncitos delgados, ligeramente curvos, rojo fucsia, destacándose claramente contra un fondo azul.

3 .Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopio óptico		
2	Balanza analítica		
3			

**3.2. Materiales**

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Matraz	1000 ml	
2	Probeta	100 ml	
3	Láminas portaobjeto		
4	Laminillas cubreobjetos 22x40 mm		

3.2. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Fenol		
2	Fucsina básica		
3	Azul de metileno		
4	Ácido clorhídrico		
5	Alcoholes corriente		
6	Alcoholes absolutos		
7	Xilol		
8	Ácido acético		

4. Indicaciones/instrucciones:

2.1 Usar guardapolvo

2.6 Contar con protección adecuada.

5. Procedimientos:**Primero:**

MICROTOMÍA: Hacer cortes en parafina de 3 micrómetros de grosor. De la muestra objeto de estudio se hará una lámina, Simultáneamente se correrá una lámina patrón para conocer la validez de la prueba, para este último se puede usar un corte con BAAR.

Segundo:**SOLUCIONES:****Solución de carbol-fucsina**

Ácido carbólico (fenol, ácido fénico)	2,5 mL
Alcohol absoluto	5,0 mL
Fucsina básica (C.I. 42510)	0,5 g
Agua destilada	50,0 mL

Nota: Guardar a temperatura ambiente. Filtrar antes de usar.

Alcohol ácido al 1%

Ácido clorhídrico concentrado	1,0 mL
Alcohol 70%	99,0 mL



Solución de trabajo de azul de metileno

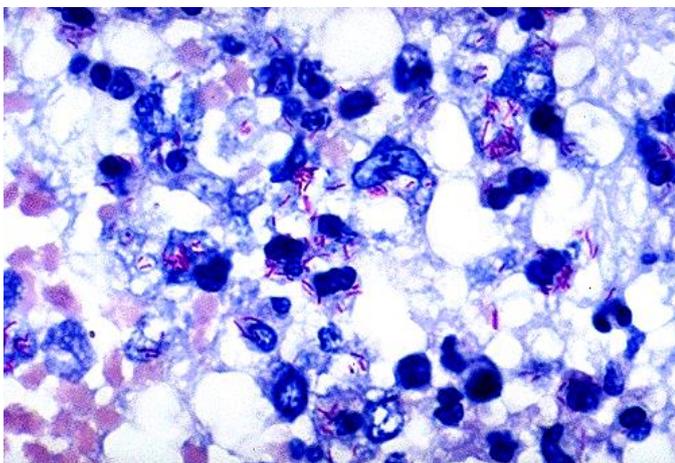
Azul de metileno (C.I. 52015)	0,5 g
Ácido acético glacial concentrado	0,5 mL
Agua corriente	100,0 mL

Tercero:

1. Desparafinar e hidratar hasta agua corriente.
2. Colorear las láminas con solución de carbol-fucsina durante 20 minutos. Filtrar la solución antes de usar.
3. Enjuagar bien en agua corriente.
4. Decolorar con alcohol-ácido al 1% o ácido sulfúrico 1%, hasta que las láminas estén de color rosa pálido.
5. Lavar con agua corriente 8 minutos.
6. Contra colorear por un zambullida de la lámina a un tiempo en la solución de trabajo de azul de metileno. Las láminas deben de quedar de un color azul pálido. La sobre coloración puede enmascarar a los bacilos.
7. Lavar con agua corriente.
8. Secar en la estufa, aclarar y montar en bálsamo de Canadá.

6. Resultados:

Organismos ácido-alcohol resistentes (mycobacterium, Criptosporidium sp., Actynomices sp.) de color rojo brillante, eritrocitos de color naranja amarillento, otros elementos tisulares de color azul pálido.





7. Conclusiones:

- 7.1. El alumno prepara los reactivos para la coloración de .BK
- 7.2 El alumno realiza la coloración y reconoce los BAAR usando el microscopio óptico.

8. Interrogantes:

- 1.- ¿Por qué el *Mycobacterium tuberculosis* son resistentes al alcohol-ácido?
- 2.- ¿Cómo haces el control de tus reactivos?
- 3.- ¿Qué exámenes se realizan para diagnosticar la TBC?

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

<https://es.scribd.com/doc/51863770/PRACTICA-4-ZHIEL-NEELSEN>



Guía de práctica N° 10

Coloración de Giemsa

Sección :

Docente: Lic. Silvia Castro Grande

Fecha : 18/05/2017

Duración: 2 horas

Instrucciones: Ser puntuales. Asistir a la práctica debidamente uniformados.
Traer la guía de práctica en un folder.

1. Propósito /Objetivo:

Desarrolla el método de coloración de Giemsa para demostrar la presencia de *Helicobacter pylori* en cortes histológicos.

Utiliza el microscopio para observar la coloración.

2. Fundamento Teórico

Giemsa contiene una mezcla de colorantes catiónicos (azul de metileno, azur A, azur B) y aniónicos (eosina), lo que da una amplia gama de colores. El azul de metileno y el Azur son colorantes metacromático que muchas estructuras se tiñan de púrpura y no de azul. El pH de la solución de coloración es crítico. La gama del pH debe estar entre 6.4 y 6.9.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopio óptico		
2	Balanza analítica		
3			

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Matraz	1000 ml	
2	Probeta	100 ml	
3	Láminas portaobjeto		
4	Laminillas cubreobjetos 22x40 mm		
5			

3.2. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Giemsa		
2	Alcohol metílico		
3	Glicerina		
4	Alcoholes absolutos		
5	Xilol		
6			



4. Indicaciones/instrucciones:

- 2.1 Usar guardapolvo
- 2.7 Contar con protección adecuada.

5. Procedimientos:

Primero:

Microtomía: Hacer cortes en parafina de 3 micrómetros de grosor. De la muestra objeto de estudio se hará una lámina, Simultáneamente se correrá una lámina patrón para conocer la validez de la prueba, para este último se puede usar un corte con H. pylori.

Segundo:

SOLUCIONES:

Solución stock de Giemsa

 Giemsa en polvo 1,0 g

 Alcohol metílico 66,0 mL

 Glicerina 66,0 mL

Añadir la glicerina al Giemsa en polvo y colocarlo a la estufa a 60°C por ½ a 2 horas. Luego añadir el alcohol metílico.

Solución de trabajo

 Giemsa stock 1,25 mL

 Alcohol metílico 1,50 mL

 Agua destilada 50,00 mL

Solución stock de rosina

 Rosina pura 10,0 g

 Alcohol absoluto 100,0 mL

Solución de trabajo de rosina

 Solución stock de rosina 5,0 a 10,0 mL

 Alcohol 95% 40,0 mL

PROCEDIMIENTO:

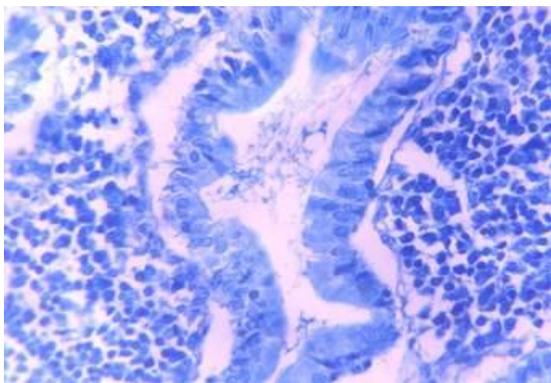
1. Desparafinar e hidratar hasta alcohol de 95%.
2. Lavar bien en agua corriente.
4. Enjuagar en agua destilada.
5. Colocar en solución de trabajo de Giemsa.



6. Diferenciar en alcohol rosina hasta que las secciones asuman un color rosado púrpura. Chequear bajo el microscopio.
7. Alcohol absoluto. 2 cambios.
8. Xilol. 2 cambios.
9. Montar con bálsamo de cánada.

6. Resultados:

Núcleo de color azul, citoplasma, colágeno y otros elementos tisulares de color rosado



7. Conclusiones:

7.1. El alumno prepara los reactivos para la coloración de Giemsa.

7.2 El alumno realiza la coloración y reconoce las bacterias *Helicobacter pylori*, usando el microscopio óptico.

8. Interrogantes:

1.- ¿Qué coloración es específica para el *Helicobacter pylori*?

2.- ¿Cuál es el fundamento de la coloración Giemsa?

3.- ¿Cuáles son las utilidades de esta coloración?

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- Monteguenga B, Esteban R, Calvo G., Técnicas en Histología y Biología Celular. Barcelona: Elsevier Masson, 2009.

Código: Clasif. Rewey 611.018

M77



Guía de práctica N° 11

Coloración de Rojo Congo De Bennhold

Sección :

Docente: Lic. Silvia Castro Grande

Fecha : 25/05/2017

Duración: 2 horas

Instrucciones: Ser puntuales. Asistir a la práctica debidamente uniformados.
Traer la guía de práctica en un folder.

1. Propósito /Objetivo:

Desarrolla el método de coloración de Rojo Congo para demostrar la presencia de amiloide en cortes histológicos.

Utiliza el microscopio para observar la coloración.

2. Fundamento Teórico

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

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopio óptico		
2	Balanza analítica		
3			

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Matraz	1000 ml	
2	Probeta	100 ml	
3	Láminas portaobjeto		
4	Laminillas cubreobjetos 22x40 mm		

3.2. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Rojo congo		
2	Hematoxilina		
3	Carbonato de litio		
4	Alcoholes corriente		
5	Alcoholes absolutos		
6	Xilol		
7			



4. Indicaciones/instrucciones:

- 2.1 Usar guardapolvo
- 2.8 Contar con protección adecuada.

5. Procedimientos:

Primero:

MICROTOMIA: Cortar secciones en parafina de 3 a 4 micrómetros de grosor

Segundo:

SOLUCIONES:

Solución de rojo Congo

Rojo Congo (C.I. 22120) 1.0 g
Agua destilada

100.0 mL

Solución acuosa saturada de carbonato de litio

Solución colorante de hematoxilina de Harris.

Tercero:

1. Desparafinar e hidratar hasta agua corriente.
2. Colorear con la solución de rojo Congo por 30 minutos.
3. Tratar los cortes con la solución saturada de carbonato de litio por 15 segundos.
4. Lavar con agua corriente durante 15 minutos.
5. Colorear con hematoxilina de Harris por 2 minutos.
6. Lavar con agua corriente durante 1 minuto
7. Deshidrata, aclarar y montar en bálsamo de Canadá.

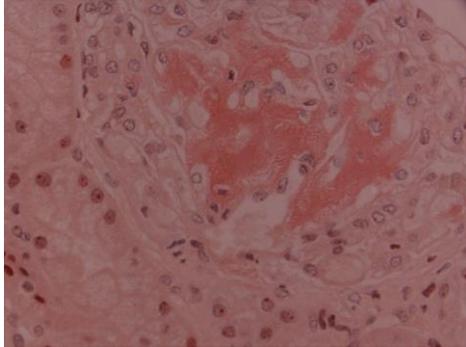
6. Resultados:

Observadas las láminas con luz convencional, los depósitos de amiloide varían de color naranja a rojo. Otros componentes como el tejido elástico, fibras de celulosa, las paredes de variedades de hongos y gránulos eosinófilos también adquieren esta coloración. Cuando se observa con luz polarizada, los depósitos de amiloide exhiben una birrefringencia verde; una birrefringencia similar muestran los derivados de la celulosa y las paredes de algunos hongos, sin embargo, estos últimos materiales pueden distinguirse del amiloide por características morfológicas o por otras coloraciones.



El amiloide teñido con Rojo Congo muestra fluorescencia roja bajo luz ultravioleta.

OBSERVACIONES: El éxito de esta coloración requiere de una solución de rojo Congo recién preparada.



7. Conclusiones:

7.1. El alumno prepara los reactivos para la coloración de Rojo congo.

7.2 El alumno realiza la coloración y reconoce los depósitos de amiloide usando el microscopio óptico.

8. Interrogantes:

1.- ¿Qué es amiloide?

2.- ¿Cómo realizas el control de tus reactivos?

3.- Investigar otros métodos para la coloración de amiloide en tejidos,

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

https://www.ecured.cu/Rojo_Congo



Guía de práctica N° 12

Coloración de Perls

Sección :

Docente: Lic. Silvia Castro Grande

Fecha : 01/06/2017

Duración: 2 horas

Instrucciones: Ser puntuales. Asistir a la práctica debidamente uniformados.
Traer la guía de práctica en un folder.

1. Propósito /Objetivo:

Desarrolla el método de coloración de Perls para demostrar la presencia de hierro en cortes histológicos.

Utiliza el microscopio para observar la coloración.

2. Fundamento Teórico

El hierro trivalente al enfrentarse al ferrocianuro de potasio o de sodio forma in situ un complejo fuertemente coloreado de azul turquesa, el ferrocianuro férrico; este complejo precipita a manera de sustancia amorfa o microgranulosa que es atraído electrostáticamente por ciertas estructuras citoplasmáticas. El ácido clorhídrico interviene en la liberación del hierro, ya que éste se encuentra almacenado en las células unido a proteínas en cuya forma no puede interactuar con el ferrocianuro de potasio.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopio óptico		
2	Balanza analítica		
3			

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Matraz	1000 ml	
2	Probeta	100 ml	
3	Láminas portaobjeto		
4	Laminillas cubreobjetos 22x40 mm		
5			

3.2. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Ferrocianuro de Potasio		
2	Ácido clorhídrico		
3	Alcohol corriente		
4	Alcohol absoluto		
5	Xilol		
6			



7			
8			
9			

4. Indicaciones/instrucciones:

- 2.1 Usar guardapolvo
- 2.9 Contar con protección adecuada.

5. Procedimientos:

Primero:

MICROTOMIA: Cortar secciones en parafina de 3 a 4 micrómetros de grosor

Segundo:

	Solución acuosa de ferrocianuro de potasio al 2%	
Ferrocianuro de potasio o de sodio		2,0 g
Agua destilada		100,0 mL

	Solución acuosa de ácido clorhídrico al 2%	
Ácido clorhídrico		2,0 mL
Agua destilada		100,0 mL

Soluciones colorantes de hematoxilina de Harris y eosina

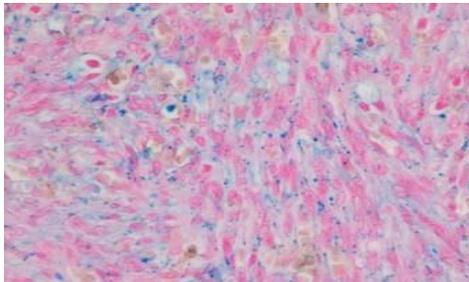
Tercero:

1. Desparafinar e hidratar las secciones hasta agua destilada.
2. Agregar a la lámina un volumen conocido de ferrocianuro de potasio y dejar actuar durante 1 minuto.
3. Sobre el ferrocianuro agregar un volumen igual de ácido clorhídrico y hacer una mezcla homogénea. Dejar que actúe durante 15 a 20 minutos o hasta que el tejido tome una coloración azul.
4. Lavar con agua corriente por 2 minutos.
5. Colorear con la hematoxilina de Harris durante 2 minutos.
6. Lavar en agua corriente durante 1 minuto
7. Colorear con la eosina durante 15 segundos
8. Lavar en agua corriente durante 20 segundos
9. Deshidratar, aclarar y montar en bálsamo de Canadá.



6. Resultados:

Los depósitos de hierro trivalente se observan de color azul turquesa (azul de Prusia), núcleos de color morado y citoplasma rosado.



7. Conclusiones:

7.1. El alumno prepara los reactivos para la coloración de Perls

7.2 El alumno realiza la coloración y reconoce los depósitos de hierro usando el microscopio óptico.

8. Interrogantes:

1.- ¿Cuál es el fundamento de la coloración de Perls?

2.- ¿Cuál es la utilidad de la coloración de Perls?

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

<http://www.sah.org.ar/revista/numeros/14%20vol%2020%20N2%20%202016.pdf>



IV Unidad

Guía de práctica N° 13

Coloración de Inmunohistoquímica

Sección :

Docente: Lic. Silvia Castro Grande

Fecha : 08/06/2017

Duración: 2 horas

Instrucciones: Ser puntuales. Asistir a la práctica debidamente uniformados.
Traer la guía de práctica en un folder.

1. Propósito /Objetivo:

Desarrolla el método de coloración de inmunohistoquímica demostrar la presencia de una reacción antígeno-anticuerpo en cortes histológicos.

Utiliza el microscopio para observar la coloración.

2. Fundamento Teórico**MÉTODO POLIMERO FLEX**

Sistema En Visión, en un primer paso, se une el Ac primario con los antígenos de la célula. Después se une al Ac secundario, que a su vez está unido al esqueleto de dextrano, esqueleto que porta, además de cientos de moléculas de Ac secundario (lo que facilita la reacción), y cientos de moléculas de enzimas que reaccionarán con el cromógeno (lo que potencia su visualización).

3. Equipos, Materiales y Reactivos**3.1. Equipos**

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopio óptico		
2	PTLINK Microprocesador		
3			

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Matraz	1000 ml	
2	Probeta	100 ml	
3	Láminas portaobjeto		
4	Laminillas cubreobjetos 22x40 mm		

3.2. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Agua bidestilada		
2	Hematoxilina		
3	Carbonato de litio		
4	Alcoholes		
5	Cromógeno		
6	Xilol		
7	Buffer de lavado		
8	Buffer de recuperación		
9	Anticuerpos		



4. Indicaciones/instrucciones:

- 2.1 Usar guardapolvo
- 2.10 Contar con protección adecuada.

5. Procedimientos:

Primero:

MICROTOMIA: Cortar secciones en parafina de 2.5 a 3 micrómetros de grosor en láminas cargadas, especiales para realizar la inmunohistoquímica.

Segundo:

1. Colocar las láminas en el PT LINK a 88°C

SOLUCIONES:

1. Buffer de Recuperación de antígenos

Buffer de alto peso molecular 50 ml en un litro y medio de agua bidestilada.

2. Buffer de lavado

Buffer de lavado 50 ml en un litro de agua bidestilada.

3. Cromógeno

DAB (3,3 Diaminobencidina) gota con 1 ml de substrato

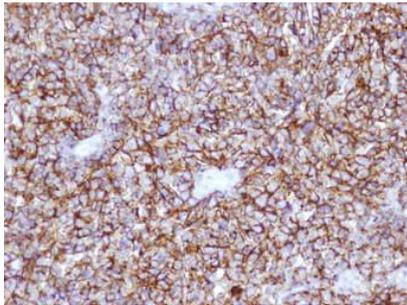
Tercero:

1. Colocar las láminas en el PT LINK a 88°C
2. Cumplido el tiempo retirar del equipo y colocar las láminas en el buffer de lavado.
3. Buffer de lavado 5 minutos.
4. Marcar la muestra usando lápiz hidrófobo.
5. Colocar el peróxido de Hidrógeno por 5 minutos, en cámara húmeda.
6. Lavar en buffer de lavado por 5 minutos
7. Colocar el anticuerpo primario por 20 minutos.
De acuerdo al tipo de patología. (CD3, CD15, CK, Ki 67)
8. Lavar en buffer de lavado (2 veces) cada una por 5 minutos
9. Polímero flex por 20 minutos en todas las láminas.
10. Lavar con buffer de lavado (2 veces) cada una por 5 minutos.
11. Cromógeno por 5 a 10 minutos
12. Colocar las láminas en agua destilada
13. Hematoxilina por 2 minutos (para contraste)
14. Lavar en agua
15. Colocar en agua amoniacal
16. Lavar en agua
17. Alcohol 96 l



18. Alcohol de 96 II
19. Alcohol absoluto I
20. Alcohol absoluto II
21. Xilol
22. Xilol
23. Montaje

6. Resultados:



7. Conclusiones:

7.1 El alumno realiza la coloración de inmunohistoquímica y reconoce las reacciones ag-ac usando el microscopio óptico.

8. Interrogantes:

- 1.- El equipo de PTLINK sirve para:
- 2.- ¿Cuál es la utilidad de la inmunohistoquímica?
- 3.- Investigue acerca de los marcadores tumorales.
- 4.- En la imagen anterior, señale la reacción ag-ac, ¿qué color es?

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

[http://www.idipaz.es/ficheros/files/Que%20es/2015/PTLINK\(1\).pdf](http://www.idipaz.es/ficheros/files/Que%20es/2015/PTLINK(1).pdf)



Guía de práctica N° 14

Recuperación Antigénica

Sección :

Docente: Lic. Silvia Castro Grande

Fecha : 15/06/2017

Duración: 2 horas

Instrucciones: Ser puntuales. Asistir a la práctica debidamente uniformados.
Traer la guía de práctica en un folder.

1. Propósito /Objetivo:

Desarrolla la recuperación antigénica para el método de coloración de inmunohistoquímica para recuperar los antígenos en cortes histológicos.

Utiliza el microscopio para observar la coloración.

2. Fundamento Teórico

La recuperación antigénica es muy importante porque esta paso nos permitirá dejar libres los antígenos que están presentes en los tejidos. Existen diferentes métodos, la más usada en el método de DAKO.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopio óptico		
2	PT Link		
3			

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Matraz	1000 ml	
2	Probeta	100 ml	
3	Láminas portaobjeto		
4	Laminillas cubreobjetos 22x40 mm		
5			

3.2. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Buffer de recuperación		
2	Agua bidestilada		
3			

4. Indicaciones/instrucciones:

2.1 Usar guardapolvo

2.1.1 Contar con protección adecuada.



5. Procedimientos:

Primero:

Microtoma: Cortar secciones en parafina de 3 a 4 micrómetros de grosor

Segundo:

Soluciones:

Preparación de Buffer de recuperación.

Tercero:

Llevar al equipo de PT Link según instrucciones de catálogo.

6. Resultados:

Depende de la recuperación antigénica para poder realizar las reacciones ag.ac y de esto depende el tratamiento de una paciente.

7. Conclusiones:

7.1 El alumno realiza la recuperación antigénica para recuperar antígenos en los cortes histológicos para que se dé la reacción ag-ac usando el microscopio óptico.

8. Interrogantes:

1.- Investigue sobre otros métodos de recuperación antigénica.

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

Monteguenga B, Esteban R, Calvo G., Técnicas en Histología y Biología Celular. Barcelona: Elsevier Masson, 2009. Código: Clasif. Rewey 611.018 M77



Guía de práctica N° 15

Marcadores Inmunohistoquímicos para linfomas

Sección :

Docente: Lic. Silvia Castro Grande

Fecha : 22/06/2017

Duración: 2 horas

Instrucciones: Ser puntuales. Asistir a la práctica debidamente uniformados.
Traer la guía de práctica en un folder.

1. Propósito /Objetivo:

Marcadores inmunohistoquímicos para linfomas

Utiliza el microscopio para observar la coloración.

2. Fundamento Teórico

Sistema En Visión, en un primer paso, se une el Ac primario con los antígenos de la célula. Después se une al Ac secundario, que a su vez está unido al esqueleto de dextrano, esqueleto que porta, además de cientos de moléculas de Ac secundario (lo que facilita la reacción), y cientos de moléculas de enzimas que reaccionarán con el cromógeno (lo que potencia su visualización). Los marcadores son para linfomas.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopio óptico		

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Matraz	1000 ml	
2	Probeta	100 ml	
3	Láminas portaobjeto		
4	Laminillas cubreobjetos 22x40 mm		

3.2. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	CD 20		
2	CD 3		
3	CD 68		
4	Alcoholes corriente		
5	Alcoholes absolutos		
6	Xilol		
7			

4. Indicaciones/instrucciones:

2.1 Usar guardapolvo

2.12 Contar con protección adecuada.



5. Procedimientos:

Primero:

MICROTOMIA: Cortar secciones en parafina de 3 a 4 micrómetros de grosor

Segundo:

Se realiza la coloración de los diferentes anticuerpos usados en linfomas de acuerdo a la práctica 13.

6. Resultados:

Los alumnos discriminen el uso de la diversidad de marcadores para diferentes patologías.

7. Conclusiones:

7.1 El alumno realiza la coloración de los marcadores para linfomas y visualiza las reacciones ag-ac usando el microscopio óptico.

8. Interrogantes:

1.- Realice un resumen del tema usando un mapa mental.

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

<http://int.search.myway.com/search/AJimage.jhtml?searchfor=inmunohistoquimica+de+linfomas&n>



Guía de práctica N° 16

Marcadores Inmunohistoquímicos para cáncer de mama

Sección :

Docente: Lic. Silvia Castro Grande

Fecha : 15/06/2017

Duración: 2 horas

Instrucciones: Ser puntuales. Asistir a la práctica debidamente uniformados.
Traer la guía de práctica en un folder.

1. Propósito /Objetivo:

Marcadores inmunohistoquímicos para cáncer de mama

Utiliza el microscopio para observar la coloración.

2. Fundamento Teórico

Sistema En Visión, en un primer paso, se une el Ac primario con los antígenos de la célula. Después se une al Ac secundario, que a su vez está unido al esqueleto de dextrano, esqueleto que porta, además de cientos de moléculas de Ac secundario (lo que facilita la reacción), y cientos de moléculas de enzimas que reaccionarán con el cromógeno (lo que potencia su visualización).

Los anticuerpos primarios son para cáncer de mama.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopio óptico		
2			
3			

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Matraz	1000 ml	
2	Probeta	100 ml	
3	Láminas portaobjeto		
4	Laminillas cubreobjetos 22x40 mm		
5			

3.2. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Progesterona		
2	Estrógeno		
3	Herb 2		
4	Ki 67		
5	P 53		
6	Xilol		
7	Alcoholes		



4. Indicaciones/instrucciones:

- 2.1 Usar guardapolvo
- 2.13 Contar con protección adecuada.

5. Procedimientos:

Primero:

Microtoma: Cortar secciones en parafina de 3 a 4 micrómetros de grosor

Segundo:

Se realiza la coloración de los diferentes marcadores en carcinomas de mama usando diferentes marcadores.

6. Resultados:

Los alumnos discriminen el uso de los diferentes marcadores en el cáncer de mama.

7. Conclusiones:

- 7.1 El alumno realiza la coloración de los marcadores para cáncer de mama y visualiza las reacciones ag-ac usando el microscopio óptico.

8. Interrogantes:

- 1.- Realice un resumen usando un mapa mental.

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

http://www.breastcancer.org/es/sintomas/diagnostico/estado_hormonal/interpretar_resultados